



Universidad
Zaragoza



Facultad de Ciencias
Universidad Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Pretratamientos físico-químicos de residuos agrícolas para la obtención de biocombustibles.

Autor:

Marcos Bayona Albalade

Director:

Jaime Soler Herrero

Grado en Biotecnología-Facultad de Ciencias

2021

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	1
3. NECESIDAD DE REALIZAR UNA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	2
4. METODOLOGÍA	2
5. INTRODUCCIÓN	3
5.1. Marco económico y medioambiental	3
5.2. Tipos de biocombustibles y procedencia	4
5.3. Biorrefinería	7
6. RESIDUOS AGRÍCOLAS	8
6.1. Origen	8
6.2. Potencial de los residuos agrícolas	9
6.3. Composición de la biomasa lignocelulósica	10
7. PRETRATAMIENTOS DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA	12
7.1. Formación de compuestos inhibidores durante los pretratamientos	13
7.2. Pretratamientos físicos	14
7.3. Pretratamientos químicos	14
7.4. Pretratamientos biológicos	15
7.5. Pretratamientos fisicoquímicos	15
7.5.1. EXPLOSIÓN CON VAPOR	15
7.5.2. AGUA CALIENTE LÍQUIDA (LHW)	17
7.5.3. AFEX	19
7.5.4. EXPLOSIÓN CON CO ₂	20
7.5.5. OXIDACIÓN HUMEDA	20

8. CONCLUSIÓN	22
9. CONCLUSIONS	24
10. ANEXOS	26
ANEXO 1	26
ANEXO 2	29
ANEXO 3	30
ANEXO 4	32
ANEXO 5	33
ANEXO 6	35
11. BIBLIOGRAFÍA	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Gráfica de artículos publicado Al año en Scopus cada año que contienen la palabra “Biofuel”	26
Figura 2: Principales países que han depositado artículos relacionados con los Biocombustibles en Scopus	27
Figura 3: Principales Instituciones con más publicaciones en relación con los biocombustibles en Scopus	27
Figura 4: Principales áreas de investigación Sobre los artículos depositados en Scopus con referencia a los biocombustibles	28
Figura 5: Principales áreas de investigación Sobre los artículos depositados en Scopus con referencia a los biocombustibles	29
Figura 6: Desarrollo en el consumo de bioetanol desde el 2002 hasta la actualidad y sus perspectivas de consumo en el futuro	30
Figura 7: Desarrollo en el consumo de biodiesel desde el 20021 a la actualidad y sus perspectivas de consumo en el futuro.	30
Figura 8: Porcentaje de biocarburantes presente sobre el total de los combustibles en el sector transporte.	31
Figura 9: Porcentaje de los distintos biocombustibles empleados en el sector transporte	31
Figura 10: Porcentajes de los distintos compuestos de los residuos agrícolas más usados en la producción de biocombustibles.	32
Figura 11: Estructura de la matriz lignocelulósica	33
Figura 12: Diferentes productos derivados de la biomasa lignocelulósica	34
Figura 13 : Compuestos inhibidores derivados del pretratamiento de la biomasa lignocelulósica	35
Figura 14: Diagrama del proceso de explosión a vapor en dos etapas	17

1. RESUMEN

La contaminación que generan los recursos fósiles que se utilizan en la actualidad, hace cada vez más necesario la búsqueda de nuevas formas de energía renovables que puedan satisfacer las altas demandas energéticas de una población humana que continúa creciendo. La reutilización de los residuos agrícolas para la producción de biocombustibles tiene grandes ventajas debido a su gran abundancia y su bajo coste, con la ventaja añadida de no emplear recursos destinados al consumo humano para su obtención.

Con esta revisión bibliográfica se pretende proporcionar una visión general del proceso y de los aspectos más importantes relacionados con el mismo acerca de los distintos pretratamientos fisicoquímicos que se emplean en los residuos agrícolas. Estos pretratamientos se utilizan para incrementar el rendimiento de la posterior hidrólisis y fermentación para la producción de bioetanol, el principal biocombustible producido a partir de la biomasa lignocelulósica procedente de estos residuos. La información ha sido obtenida de la búsqueda y comparación de una gran cantidad de artículos. Se ofrece una visión general del tema, para acabar profundizando sobre los distintos pretratamientos fisicoquímicos aplicables. Se describen sus principales características, los efectos producidos en la biomasa, así como las distintas condiciones y parámetros de operación en función del tipo de biomasa. En última instancia, con toda la información recopilada se concluye acerca de cuáles son las ventajas y desventajas principales de estos pretratamientos.

2. ABSTRACT

The pollution generated by the fossil resources used currently, makes it necessary to search for new ways of renewable energy that can meet the high energy demands of the human population that continues to grow. The reuse of agricultural waste to produce biofuels has great advantages due to its great abundance and low cost, with the added advantage of not using resources destined for human consumption to obtain it.

With this bibliographic review we aim to provide an overview of the process. We explain the most important aspects of the different physical-chemical pre-treatments used on agricultural waste. These are used to increase the yields of the subsequent hydrolysis and fermentation to produce bioethanol. Bioethanol is the main biofuel produced from the lignocellulosic biomass obtained from these wastes.

The information has been regarded from a large number of articles. Firstly, giving a general overview of the subject and afterwards detailing every different physical-chemical pre-treatments. We discuss their main characteristics, the effects produced on the biomass, as well as the different operating conditions and parameters depending on the type of biomass. Finally, with all the information gathered, we draw a conclusion about the main advantages and disadvantages of these pre-treatments.

3. NECESIDAD DE REALIZAR UNA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Tras buscar la palabra “biofuel” se obtienen un total de 73.713 resultados, siendo el primer artículo publicado por John L. Harned en 1972 bajo el título de “Analytical Evaluation of a Catalytic Converter System”.

Si analizamos las palabras más nombradas en los diferentes artículos encontramos “biomass” con 16.698 resultados; la palabra “biodiesel” aparece citada 10.209 veces; “bioethanol”, nombrada 4.398 veces, y “Biofuel production” aparece 8.308 veces.

Como se puede observar, existe una inmensa cantidad de artículos centrados en la producción de biocombustibles, y todavía más centrados en la producción de biomasa. Esto puede darnos una cierta información sobre como pueden relacionarse estos conceptos.

El Anexo 1 muestra como el número de publicaciones sobre el tema se ha incrementado mucho en la última década.

Por lo tanto, debido a la gran cantidad de información y la breve extensión de este trabajo, el objetivo principal de este Trabajo de Fin de Grado (TFG) es ofrecer una amplia revisión bibliográfica con el fin de clasificar los distintos pretratamientos físico-químicos aplicables a los residuos agrícolas, así como sus principales características y condiciones óptimas para su correcta aplicación, con el fin de separar los principales componentes de la biomasa lignocelulósica y como consecuencia incrementar los rendimientos en la posterior hidrólisis y fermentación de los monómeros resultantes.

4. METODOLOGÍA

Con el objetivo de realizar una revisión bibliográfica lo más extensa posible, utilizamos bases de datos como Alcorze, Scopus, Google Scholar, Science Scopus y Dialnet. Realizamos una búsqueda más concreta de cada uno de los apartados y palabras clave necesarios para ir elaborando esta memoria.

Una vez abordado más a fondo el tema, seleccionamos aquellos documentos más relevantes, haciendo uso de distintas fuentes como publicaciones científicas, artículos de revistas, tesis doctorales, libros o bases de datos gubernamentales para obtener una información lo más completa posible.

A continuación, fuimos agrupando esta información lo más estructurada y ordenadamente posible, comenzando desde una visión más general y global del tema, llegando hasta aspectos más específicos y concretos.

Por último, se llevó a cabo la redacción de esta memoria, intentando en todo momento expresar la información e ideas de forma clara y organizada con el fin de facilitar la comprensión.

5. INTRODUCCIÓN

La búsqueda de nuevas fuentes de energía renovables se ha hecho cada vez más necesaria, debido a la gran demanda de combustible fósil por parte del ser humano, que tiene como consecuencia el aumento en la emisión de gases efecto invernadero (GEI). Los biocombustibles son una gran apuesta para sustituir a estos combustibles tradicionales. Sin embargo, debido al enorme crecimiento de la población humana, la producción de estos a partir de cultivos destinados a su consumo ya no es una alternativa viable, por lo que es necesario buscar métodos alternativos para la obtención de los mismos. Los residuos agrícolas suponen una fuente de materia prima idónea para su transformación en biocombustibles, debido a su alta disponibilidad y bajo coste.

5.1 MARCO ECONÓMICO Y MEDIOAMBIENTAL

El agotamiento de los combustibles fósiles, así como la gran cantidad de compuestos altamente contaminantes que se producen durante su combustión, ha incentivado la búsqueda de nuevas fuentes alternativas de energía, así como métodos y protocolos de obtención cada vez más innovadores.(1)

Los biocombustibles son una fuente de energía renovable con mucho futuro, permitiendo ahorrar las emisiones producidas por los combustibles fósiles. Sin embargo, su producción puede no resultar tan ventajosa si se utilizan cultivos destinados al consumo humano. Para ello es necesario evaluar y diseñar nuevas estrategias que permitan su obtención a partir de materias que no compitan con la producción de alimentos destinados a la población.(2)

Estados Unidos seguida de Brasil, son los mayores productores de biocombustibles. En 2018 solo Estados Unidos produjo 38.088 miles de toneladas y Brasil 21.375 toneladas, siendo Alemania, Francia, Países Bajos y España los mayores productores de la unión europea. (3)

En el Anexo 2 se puede observar la comparación en la producción de biocombustibles entre los principales productores mundiales.

La incorporación de los biocombustibles en el sector del transporte esta en la agenda diaria de todos gobiernos Las nuevas políticas y objetivos establecidos en el Plan Nacional Integrado de Energía y Clima (PNIEC), el 30 de Marzo del 2021, se aprobó el Real Decreto 205/2021, que regula los objetivos obligatorios mínimos de venta o consumo de biocarburantes, fijándolos en un 9,5% para el año 2021 y en un 10% para el 2022.

5.2 TIPOS DE BIOCOMBUSTIBLES Y PROCEDENCIA

• Biocombustibles sólidos:

Proceden de aquella biomasa que puede ser utilizada de forma directa mediante combustión para la obtención de energía, como las astillas procedentes de la actividad forestal y silvícola. Sin embargo, debido a su baja densidad, estas astillas y otros derivados suelen utilizarse para la fabricación de pellets y briquetas tras un proceso de compactación, dando como resultado compuestos cilíndricos altamente compactados y con baja humedad, ampliamente utilizados en calderas y estufas industriales para obtener energía térmica. Normalmente los pellets tienen menor tamaño y mayor densidad, lo que les convierte en materiales idóneos para las estufas de los hogares.(4,5)

Otro combustible sólido es el carbón vegetal. Se produce por pirolisis de residuos vegetales y de madera en condiciones anhidras y anaeróbicas, denominado “carbonización”. Como resultado se obtiene un sólido resistente al ataque microbiano altamente demandando para su uso doméstico. El atractivo de este material es que tiene un poder calorífico mayor que la madera, por lo que es un combustible muy apreciado para las barbacoas. (6)

• Biocombustibles líquidos:

• **Biodiesel:** Se obtiene a partir de aceites vegetales, derivados de semillas oleaginosas como el girasol, la soja, la colza y la palma. También pueden utilizarse como materias primas aceites vegetales usados o grasas animales, como el sebo vacuno.(7)

• **Bioetanol:** Se produce a partir de la fermentación de almidón o azúcares de materias vegetales, sobre todo de a partir de la caña de azúcar o del maíz. En el caso de los materiales con carbohidratos, es necesario el uso de una etapa de pretratamiento para maximizar la fermentación (8), de las que hablaremos detalladamente mas adelante en el apartado 7.

• **Compuestos oxigenantes:** Se trata del bio-ETBE (terc-butil eter), bio-MTBE (metil ter-butil éter) y bio-TERC (ter-amil butil éter). Se usan normalmente como aditivos de las gasolineras mejorando el octanaje de las gasolinas y aumentando su rendimiento. Se obtienen a partir de isobuteno y bioethanol.(9)

• **Aceite vegetal hidrotratado (HVO):** Se obtiene a partir de biomasa y también es usado para mezclarlo con biodiesel en motores de combustión convencionales.(10)

Estos biocombustibles se denominan biocarburantes, ya que su principal uso es para motores de combustión. El más utilizado es el biodiesel, seguido del etanol y el HVO.(11)

En el Anexo 3 podemos encontrar unas gráficas mostrando el incremento en el consumo de biodiesel y bioetanol desde el año 2002.

- **Biocombustibles gaseosos:**

· **Biogás:** Se obtienen tras la digestión anaeróbica de la materia orgánica, procedente de residuos de origen agrícola, ganadero o de transformaciones de la industria agroalimentaria en contenedores cerrados denominados biodigestores. Esta descomposición es llevada a cabo por bacterias metanogénicas, dando como resultado un biogás compuesto mayoritariamente por metano (50-70%), dióxido de carbono (20-40%) y otros gases en menores proporciones como ácido sulfhídrico, monóxido de carbono, trazas de nitrógeno y en ocasiones un efluente que puede ser utilizado como abono en cultivos.(12)

· **Gas de síntesis:** Se produce por la descomposición térmica de biomasa, descomponiendo el material lignocelulósico en H_2 , CH_4 y CO , a través de una combustión controlada limitando las cantidades de oxígeno.(13)

Se puede emplear en la producción directa de energía, o como precursor para la formación de compuestos químicos de importancia como el gas natural, metanol y el amoníaco.(14)

· **Biohidrógeno:** Se trata de un biocombustible cuya producción es muy respetuosa con el medio ambiente, debido a que no emite gases de efecto invernadero ni otros contaminantes durante su combustión, más que agua. Los procesos de su producción pueden clasificarse en función de si son dependientes o no de la luz. Entre aquellos que necesitan la luz destacan la fotofermentación y la biofotólisis.

La fotofermentación es llevada a cabo por bacterias fotosintéticas púrpuras no azufradas, partiendo de compuestos orgánicos ricos en carbono, producen biohidrógeno gracias a la energía solar en condiciones anaerobias, debido a que las nitrogenasas que llevan a cabo este proceso son muy sensibles a la presencia de oxígeno. Mediante la biofotólisis se produce H_2 y O_2 a partir de agua y energía solar. El proceso puede producirse de manera directa en dos fases a través de algas verdes y cianobacterias; o mejor de forma indirecta mediante cianobacterias fijadoras de nitrógeno.(15,16)

La fermentación oscura la llevan a cabo bacterias anaerobias como el *Clostridium* o anaerobias facultativas como el *Enterobacter*. El proceso consiste en la fermentación en ausencia de luz de biomasa con altos contenidos en carbohidratos como glucosa, sacarosa, celulosa, almidón para producir biohidrógeno.(17)

Los biocombustibles también se clasifican en función de la materia prima de la que se parte para su obtención.

- **Biocombustibles de primera generación:**

Son aquellos producidos a partir de biomasa comestible, como los cultivos de caña de azúcar y remolacha azucarera, los cultivos de cereales como el trigo, el maíz y la cebada, y los aceites que provienen de semillas oleaginosas. El principal inconveniente de estos biocombustibles es que utilizan cultivos alimentarios destinados al consumo humano; actualmente se prefieren otros métodos que no empleen recursos destinados al consumo humano. Además, debido al aumento de la demanda, se han encarecido muchos los precios de estas materias primas.(18,19)

- **Biocombustibles de segunda generación:**

Se obtienen a partir de biomasa residual procedente de residuos agrícolas como pajas y rastrojos obtenidos de los cultivos de cereales, restos de poda, residuos forestales o procedentes de las industrias de transformación agrícolas.

Se trata de una materia de bajo costo debido a su escasa utilidad y la gran cantidad acumulada de esta biomasa lignocelulósica. Además, al tratarse de residuos, no hay competencia con cultivos destinados a la alimentación, por lo que se trata de unos biocombustibles con un enorme potencial.

La gran desventaja de esta biomasa es la necesidad de realizar pretratamientos previos a la hidrólisis enzimática para poder liberar los componentes para su posterior hidrólisis y fermentación. Este proceso encarece los costes de producción y dificulta su uso a gran escala con esta finalidad.(20–22)

- **Biocombustibles de tercera generación:**

Se obtienen mediante el cultivo con algas. Se pueden utilizar tanto macroalgas como el kelp, que necesita medios marinos (salados), como microalgas, más adecuadas, ya que permiten su cultivo tanto en ecosistemas de agua dulce como marinos. Una de las principales ventajas es que no compite con los espacios dedicados al cultivo de alimentos o a granjas de animales por lo que son una fuente muy atractiva de producción de biocombustibles.

Las microalgas son microorganismos capaces de almacenar grandes cantidades de lípidos, que pueden convertirse fácilmente en biodiesel en las biorrefinerías.(23)

Una característica destacable de este tipo de cultivos es que pueden realizarse en aguas residuales, siendo capaces de eliminar compuestos inorgánicos derivados del Nitrógeno y del Fósforo, favoreciendo al mismo tiempo la biorremediación de estos ecosistemas.

Si se desea obtener productos de mayor pureza se pueden realizar los cultivos en biorreactores cerrados, controlando todos los parámetros del cultivo y evitando el riesgo de contaminación, suponiendo un aumento del coste derivado del equipo necesario como desventaja principal-(24)

- **Biocombustibles de cuarta generación:**

Se obtienen tras la modificación genética de algas y otros organismos procariotas como las cianobacterias.(25) Se pueden llevar a cabo dos estrategias distintas, pero a su vez complementarias. La primera es la manipulación genética de los sistemas de cultivo y la segunda consiste en la modificación del metabolismo fisiológico de estos organismos, con estrategias como la mejora de la eficiencia fotosintética a través del aumento del rango del espectro de absorción o la mitigación de la fotoinhibición causada por un exceso de luz solar. (26)

Sin embargo, al tratarse de organismos genéticamente modificados (OMG), provocan gran preocupación social y ambiental, ya que estos organismos tienen un rápido crecimiento y pueden invadir los ecosistemas donde se cultivan, provocando que los gobiernos apliquen normas muy estrictas sobre su implantación estudio y aplicación.(27) Existen estudios realizados sobre un mutante de *Chlamydomonas* sin almidón que dieron como resultado una concentración de triacilglicéridos 10 veces superior tras desviar la ruta del carbono hacia la síntesis de lípidos, demostrando que se trata de una estrategia muy prometedora para el futuro.(28)

5.3 BIORREFINERÍAS

La Internacional Energy Agency (IEA) define la biorrefinería como la instalación donde se generan, de forma sostenible, un amplio espectro de productos de interés comercial a partir de la biomasa.

Se trata de instalaciones industriales donde se integran tecnologías y procesos para aprovechar la biomasa y convertirla en una gran diversidad de productos refinados, como combustibles, energía y materiales químicos con mayor valor económico y con mayor demanda en infinidad de mercados.(29,30)

Se pueden clasificar en función de la materia prima de partida o su grado de integración. En función de la materia prima utilizada tendremos (31):

1. **Biorrefinerías de cereales:** Utilizan cultivos ricos en almidón y azúcares, entre los que destacan el trigo, maíz y la cebada.
2. **Biorrefinerías de material lignocelulósico:** Requieren la separación de los componentes principales, que son la celulosa, hemicelulosa y la lignina. Como veremos más adelante, la separación de estos polímeros todavía supone un cuello de botella para su completo aprovechamiento y transformación en compuestos de interés.
3. **Biorrefinerías de semillas oleaginosas:** Emplean cultivos ricos en aceite como el girasol, la soja o la colza.
4. **Biorrefinerías verdes:** Su materia prima son las plantas y los pastos, con altos contenido de humedad.

Según su grado de integración nos encontramos con (32,33):

1. **Biorrefinerías de fase I:** Son aquellas que no poseen grado de integración alguno. Se parte de una única materia prima y a través de una única transformación se produce un solo producto.
2. **Biorrefinerías de fase II:** Son aquellas que a partir de una única materia prima son capaces de producir más de un producto, gracias a una pequeña integración de un limitado número de procesos.
3. **Biorrefinerías de fase III:** Son aquellas que mayor interés y proyección de futuro tienen. Utilizan varias materias primas que a través de la amplia integración de numerosos procesos de transformación obtienen varios productos de interés y valor económico aprovechando también los subproductos producidos en las diversas transformaciones, reduciendo por lo tanto la cantidad de residuos generados.

6. RESIDUOS AGRÍCOLAS

El Boletín Oficial del Estado (BOE) define mediante la Ley 22/2011 la palabra “Residuo” como: cualquier sustancia u objeto que su poseedor deseché o tenga la intención o la obligación de desechar,

Se entiende por “residuo agrícola” a aquellos residuos que resultan de la transformación y comercialización de explotaciones agrícolas, así como la parte de la cosecha que no se puede comercializar debido a que no cumple unos mínimos de calidad establecidos.(34)

6.1. ORIGEN

Podemos clasificar los residuos agrícolas en tres grupos diferentes:

1. **Residuos procedentes de cultivos herbáceos:**

Se trata de especies que carecen de tallos leñosos, con hojas y tallos verdes que se fragmentan con facilidad. Dentro de este grupo encontramos:

· **Procedentes del cultivo de cereales:** El trigo, maíz, centeno, cebada, arroz, avena y sorgo. El principal residuo que acumulan estos cultivos son la paja y los rastrojos derivados de sus cultivos.

La paja se ha usado durante siglos como alimento para animales y para su combustión directa, convirtiéndose en el combustible fósil por excelencia, debido bajo contenido en humedad y su alto poder calorífico.(35)

Otro uso para estos residuos consiste en incorporarlos al suelo mediante el arado tras ser troceados, permitiendo la incorporación de materia orgánica al suelo, así como elementos químicos importantes como el Nitrógeno, Fósforo y Potasio.(36,37)

· Procedentes de cultivos hortícolas: El principal residuo son los destríos, es decir, aquellas frutas que por su aspecto mermado no son aceptadas por el consumidor final, por lo que se desechan o se dejan en la propia tierra como fuente de azúcares.(6)

2. Residuos procedentes de la poda de cultivos leñosos:

En este grupo destacan la poda de la vid, del olivo, de árboles frutales y de jardinería.(38)

El plátano de paseo (*Platanus x hispánica Mill.*) es la especie más plantada en el arbolado de ciudades, ya que se trata de un árbol muy resistente.(39)

3. Residuos procedentes de la industria agroalimentaria: Este grupo engloba los distintos residuos obtenidos de la industria oleica (huesos de las aceitunas), del sector vinícola (orujo, el orujillo y lías), de la industria cafetera y alimentaria (cáscaras de frutos secos y arroz).(6)

6.2 POTENCIAL DE LOS RESIDUOS AGRÍCOLAS

Estos residuos se han aprovechado desde hace siglos para su combustión directa aprovechando la energía térmica en hornos. Cuando no se pueden utilizar en la zona o se tiene un exceso de los mismos, se aprovechan para la producción de briquetas o pellets, tras un proceso previo de secado y compactación. La pirolisis y gasificación es otro método de aprovechamiento de estos residuos muy útil, ya que como resultado del proceso se obtienen gases sintéticos (CO, CO₂, H₂, CH₄) que permite su uso en calderas. El residuo obtenido tras este proceso se conoce como “carbón vegetal”, que puede emplearse directamente para la combustión de barbacoas.(40)

En los últimos años se ha comenzado a desarrollar una tecnología basada en la biosorción. Consiste en la eliminación de metales, habitualmente metales pesados, a través de su unión con biomasa no viva. Se trata de un proceso fisicoquímico basado en la absorción y adsorción de esos iones metálicos. Las moléculas quedan retenidas en la superficie del biosorbente. El empleo de este tipo de biomasa es muy beneficioso, ya que se trata de materiales de bajo coste, abundantes, y de difícil aplicación industrial. Otra característica interesante es que esos materiales pueden llegar a concentrar metales pesados con valores mucho más altos que su concentración en fase líquida, lo que permite eliminar una mayor cantidad de metales usando una menor superficie. Para la eliminación de cobre en medios acuosos se han utilizado residuos agrícolas tales como los huesos de aceituna, cáscaras de piña, cáscaras de almendra y cáscaras de piñón.(41) La utilización de cáscara de naranja para la eliminación de Plomo y Zinc se ha conseguido con porcentajes de éxito del 99,5% para la remoción de estos metales procedentes de líquidos vertidos por actividades industriales.(42)

Otra aplicación de estos residuos es su uso como biocarbón empleado directamente sobre los cultivos. Se trata de un material carbonizado que se obtiene tras una descomposición térmica de la biomasa, que se aplica directamente en el suelo. Incrementa la retención de agua gracias

a su estructura porosa, retiene gran cantidad de nutrientes gracias al intercambio iónico, mejora las interacciones entre microorganismos y plantas de la rizosfera y se puede emplear como complemento a los fertilizantes.(43).

El aprovechamiento de estos residuos permite acabar con su acumulación y problemas derivados de su eliminación, así como plagas y malos olores. Todo ello con la enorme ventaja de contar con una materia prima en abundancia y a bajo coste. Sin embargo, se deben implantar protocolos más eficientes para poder reutilizar estos residuos de manera rentable.(44)

6.3. COMPOSICIÓN BIOMASA LIGNOCELULÓSICA

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) define la biomasa como “el conjunto de plantas terrestres y acuáticas, junto con sus derivados, subproductos y residuos producidos en su transformación”.

La biomasa lignocelulósica se compone de tres polímeros. El componente mayoritario es la celulosa, seguido de la lignina y la hemicelulosa.

- Celulosa:

Se trata de un homopolímero compuesto por subunidades de β -D-glucosa. Es el componente principal de la pared celular de las plantas. Las moléculas de glucosa están unidas por enlaces β -1,4 glucosídicos. Este enlace requiere un giro de 180° de la siguiente molécula de glucosa. Por lo tanto, la unidad estructural es el disacárido celobiosa, que no se encuentra en la naturaleza como tal.(45)

La gran abundancia de grupos hidroxilo presentes en las cadenas permite la formación de puentes de hidrógeno intramoleculares e intermoleculares. Los puentes de hidrógeno intramoleculares entre moléculas de glucosa adyacentes confieren rigidez a las cadenas, que a su vez se unen por puentes de hidrógeno intermoleculares y atracciones hidrofóbicas formando así las microfibrillas, que se agruparán formando las fibras y la unión de estas formará la pared celular. Estas interacciones son las responsables de la existencia de dos regiones en la celulosa. La región cristalina se caracteriza por un alto número de puentes de hidrógeno intermoleculares, dando como resultado una estructura altamente ordenada y en forma de reja. Estas zonas protegen a la celulosa contra la degradación, impidiendo la acción de disolventes o reactivos tanto químicos como biológicos.(46)

Si por el contrario, se forman menos puentes de hidrógeno entre estas cadenas, se obtienen regiones más desordenadas o amorfas, más susceptibles de ser hidrolizadas. Por ello, estas zonas son importantes para la digestibilidad de la celulosa.(47)

- **Hemicelulosa:**

Polímero que forma la pared celular de las plantas. Es un heteropolímero formado por distintos monosacáridos. Entre ellos contiene pentosas (D-xilosa y L-arabinosa), hexosas (D-glucosa, D-manosa y D-galactosa) y desoxihexosas (L-ramnosa y L-fucosa). Éstos últimos presentan una acetilación parcial de sus grupos hidroxilos. Contienen también ácidos uránicos (D-glucurónico, D-galacturónico y 4-O-metilglucurónico). Los monosacáridos se encuentran unidos por enlaces β -1,4 y β -1,3 glucosídicos.(48)

La hemicelulosa posee una estructura ramificada y amorfa, que presenta un grado de polimerización menor que la celulosa. Todo esto facilita su hidrólisis y solubilización, consiguiendo un mayor tamaño de los poros y por lo tanto, una mayor accesibilidad de las enzimas que actúan sobre la celulosa.(49)

Su composición y estructura varían dependiendo de la especie vegetal. El azúcar mayoritario de la hemicelulosa de las paredes celulares es la xilosa.(50,51)

La hemicelulosa forma puentes de hidrógeno con la celulosa y la lignina, actuando de conector entre estas, proporcionando rigidez a la matriz lignocelulosa. A diferencia de la celulosa, no contiene enlaces de hidrógeno intrapoliméricos entre los distintos monosacáridos que conforman su estructura, pero si enlaces de tipo éter.(52)

Gracias a los grupos acetilos que posee el polímero, le permite formar enlaces éster que le conectan con la lignina, dificultando su despolimerización. La degradación de estos grupos provoca la formación de ácido acético, que tiene como consecuencia una bajada del pH, y la consiguiente formación de compuestos ácidos inhibidores de la posterior fermentación.(53)

- **Lignina:**

Es un heteropolímero aromático, que se encuentra en la lámina media y en la pared secundaria y actúa como soporte entre la hemicelulosa y las fibras de celulosa, formando una matriz lignocelulósica fuertemente unida y proporcionando rigidez a la estructura de la pared celular.(54)

Sus enlaces de naturaleza alquílicos (C-C) y de tipo éter (C-O) resisten los ataques hidrolíticos confiriendo a la lignina gran resistencia a la degradación. El entrecruzamiento entre la lignina y las fibras de celulosa le confieren gran poder recalcitrante a la matriz lignocelulósica. Es necesario romper o alterar esta estructura para poder hacer accesibles los monómeros de azúcar.(55)

Su biosíntesis se produce a partir del aminoácido fenilalanina. Contiene estructura tridimensional compleja, amorfa y muy ramificada. Está constituida principalmente por tres unidades repetitivas que derivan de tres precursores fenilpropanoides (p-cumárico, coniferílico y sinapílico), denominados monolignoles, que difieren en el número de grupos metoxilo (-OMe) que contienen. El proceso de lignificación tiene lugar tras la deshidrogenación de estos precursores, dando como resultado las unidades p-Hidroxifenilo (H), Guayacilo (G) y Siringilo (S). A continuación, ocurre la polimerización gracias a los enlaces de tipo éter (representan el 70%) y alquílicos (carbono-carbono) entre estas unidades resultantes.(56)

La proporción de estas unidades varía según la especie vegetal. Las angiospermas (maderas duras) contienen principalmente unidades G y S. Las gimnospermas están constituidas mayoritariamente por unidades G. las especies herbáceas contienen las tres unidades en distintas proporciones.(57)

La proporción de cada uno de los componentes de los residuos agrícolas varía en función del tipo de especie vegetal. En el bagazo de la caña de azúcar, predomina la celulosa con un 40 % de la biomasa total, mientras que la hemicelulosa y la lignina representan el 25 % cada una. La paja de trigo se compone de un 30 % de celulosa, un 25 % de hemicelulosa y un contenido un poco mayor del 15 % de lignina. Para el rastrojo de maíz la celulosa llega hasta valores cercanos del 40 %, mientras que la hemicelulosa representa un 25 % y la lignina valores cercanos al 20 % del total de biomasa seca.(57,58)

En el Anexo 4 podemos ver las proporciones detalladas de cada uno de estos compuestos presentes en los residuos agrícolas más utilizados en la producción de biocombustibles

7. PRETRATAMIENTOS DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA.

La matriz lignocelulósica se caracteriza por su capacidad recalcitrante, debido a factores físicos, como la cristalinidad, el grado de polimerización o la superficie accesible de la celulosa, como por factores químicos, como la composición y estructura de la lignina y las acetilaciones de hemicelulosa.(59)

La estructura de la celulosa contiene regiones cristalinas y amorfas, donde predominan principalmente las primeras. La proporción de estas regiones depende del tipo de biomasa lignocelulósica de partida. Las zonas amorfas son más accesibles y por lo tanto más susceptibles al ataque enzimático. El grado de polimerización de la celulosa es alto y depende del material lignocelulósico de partida. Es por lo tanto un factor importante en la eficacia de la posterior hidrólisis. Ambos factores están estrechamente relacionados y son los más determinantes a la hora del éxito de un pretratamiento. Los pretratamientos más adecuados son aquellos que consiguen disminuir el grado de polimerización, a la vez que se reducen las regiones cristalinas, con el objetivo de aumentar el rendimiento de la hidrólisis enzimática posterior.(60,61)

Otro aspecto altamente relacionado con la cristalinidad de la celulosa es el área de superficie accesible para las enzimas hidrolíticas, determinado por el volumen de los poros.(62)

La eliminación de la hemicelulosa aumenta el tamaño de estos poros, permitiendo que penetren mayor cantidad de enzimas que actúan sobre la celulosa, aumentando la tasa hidrolítica.(63)

En el Anexo 5 podemos ver la estructura de la matriz lignocelulósica antes y después del pretratamiento, así como la gran variedad de productos que se pueden obtener derivado de estos polímeros, en función del pretratamiento aplicado.

7.1. FORMACIÓN DE COMPUESTOS INHIBIDORES DURANTES LOS PRETRATAMIENTOS

Durante los pretratamientos se liberan varios subproductos derivados de la lignocelulosa que actúan como inhibidores del crecimiento microbiano y de la posterior etapa de fermentación, disminuyendo el rendimiento de la producción de etanol.(64)

Estos compuestos inhibidores se dividen en cuatro clases. Los compuestos fenólicos son resultado de la degradación de la lignina, dando lugar a la vainillina, ácido p-cumárico o ácido ferúlico como los más destacados. Los derivados del furano, procedentes de la degradación de las pentosas y las hexosas. Entre ellas destacan el hidroximetilfurural (HMF) y el furfural.

El HMF es resultado de la *deshidratación en condiciones ácidas* de las hexosas (glucosa, manosa y galactosa) mientras que el furfural, compuesto con mayor efecto inhibitorio, afecta moderadamente la capacidad fermentativa de *S.cerevisiae*. El furfural se forma por deshidratación de la xilosa en medio ácido acuoso a temperaturas comprendidas entre los 150-200 °C. El tercer grupo lo constituyen los ácidos orgánicos, resultado de la degradación de derivados de la hemicelulosa y el furano. Los más relevantes son el ácido fórmico, resultado de la degradación de furfural y HMF, el ácido levulínico, producto resultante de la degradación de HMF y el ácido acético, resultado de la fragmentación de los grupos acetilo de la hemicelulosa en contacto con el agua.(65,66)

La concentración y diversidad de estos subproductos depende de las condiciones del pretratamiento escogido, así como del tipo de biomasa de partida, ya que su composición es muy variable. Para mejorar el rendimiento de las etapas posteriores, es necesaria una detoxificación. Los métodos más utilizados son los químicos, físicos y biológicos. Como método químico destaca el tratamiento alcalino con NaOH o Ca (OH)₂, reduciendo los contenidos de HMF y furfural. La desventaja de este método es la precipitación de compuestos derivado del Calcio como CaSO₄ (en explosión a vapor o con ácido diluido) que deben eliminarse, encareciendo el proceso. Entre los físicos destacan la evaporación al vacío, permitiendo eliminar compuestos volátiles como la vainillina, el furfural y el ácido acético con una eficacia muy alta.

La mejor alternativa suele ser la combinación de varios métodos, permitiendo con ello la eliminación completa de las moléculas inhibitorias.(67)

En el Anexo 6 podemos encontrar los distintos compuestos inhibidores derivados del pretratamiento de la biomasa lignocelulósica.

Un pretratamiento adecuado será aquel que permita desestructurar la matriz lignocelulósica, separando sus componentes principales (celulosa, hemicelulosa y lignina), reduciendo el grado de polimerización y cristalinidad de la celulosa, permitiendo un mayor acceso a las enzimas hidrolíticas a sus correspondientes dianas, aumentando el rendimiento de azúcares. Todo ello evitando la mínima formación de compuestos inhibidores de la posterior hidrólisis y fermentación. Los pretratamientos se pueden dividir en físicos, químicos, fisicoquímicos y biológicos.(68,69)

7.2 PRETRATAMIENTOS FÍSICOS

Tienen como objetivo reducir el tamaño de las partículas, disminuyendo así el área cristalina y el grado de polimerización de la celulosa, incrementando el área accesible para la posterior hidrólisis enzimática. Se pueden realizar por métodos mecánicos o por sonicación:(70)

Entre los métodos mecánicos destacan la molienda y triturado de la biomasa, obteniendo partículas de unos pocos milímetros. Son métodos eficaces, pero la alta demanda energética que requieren encarece mucho el proceso de producción.(71)

La extrusión consiste en el paso de la biomasa lignocelulósica a través de un barril hermético a temperaturas en torno a los 300°C que contiene uno o varios tornillos giratorios. El resultado es la disgregación de la estructura lignocelulósica. El principal inconveniente de este método es el alto consumo energético que requiere. (72)

La sonicación consiste en someter el empleo de ondas ultrasónicas a través de un fluido, generando un efecto denominado cavitación. Éste se caracteriza por la formación de gran cantidad de burbujas de gas que colapsan, rompiendo la matriz lignocelulósica.(73)

7.3 PRETRATAMIENTOS QUÍMICOS

Provocan la desestructuración de la lignina, rompiendo sus enlaces con los carbohidratos de la matriz y solubilizando la hemicelulosa. El principal inconveniente es la formación de compuestos tóxicos o inhibidores y el uso de agentes corrosivos, que hace necesario el uso de equipos costosos capaces de soportar las condiciones del tratamiento. (74–76)

- Hidrólisis ácida: Se usan ácidos concentrados o diluidos sobre la biomasa, tales como el ácido sulfúrico, nítrico o clorhídrico. Cuando se utilizan ácidos concentrados se solubilizan por completo la lignina y la hemicelulosa, mientras que el uso de ácidos diluidos solo consigue

redistribuir la lignina. El uso de ácidos concentrados eleva los costes de operación debido a la generación de productos corrosivos.

- **Hidrólisis alcalina:** Produce un hinchamiento de la matriz lignocelulósica debido a la acción de los aniones hidroxilo (OH^-) provocando la ruptura de los enlaces interpoliméricos y desestructurando la lignina. Las bases más empleadas son las de sodio, potasio y calcio.
- **Solventes orgánicos:** Hidroliza los enlaces entre la hemicelulosa y la lignina, permitiendo separar la celulosa. Se emplean solventes como acetona, alcoholes como el etanol o metanol y ésteres.
- **Ozonólisis:** Provoca la degradación de la lignina. Tiene la ventaja de que no genera compuestos tóxicos, pero si compuestos inhibidores aromáticos consecuencia de la degradación de la lignina (no se si queda muy repetitivo).

El principal inconveniente de este método es el requerimiento de enormes cantidades de ozono, encareciendo mucho el proceso a gran escala.

7.4. PRETRATAMIENTOS BIOLÓGICOS

Se emplean cócteles enzimáticos o el cultivo de microorganismos. No se añaden productos químicos, disminuyendo por lo tanto el grado de severidad del pretratamiento, disminuyendo por lo tanto la formación de compuestos inhibidores, tóxicos o corrosivos, convirtiéndolo en un pretratamiento más respetuoso con el medio ambiente.(77)

El uso de cócteles enzimáticos es más efectivo. Sin embargo, debido a su alto precio, se suelen utilizar cultivos de microorganismos como bacterias y hongos. El uso de co-cultivos permite una mayor eficacia del pretratamiento, aunque se necesite mayor tiempo de acción, debido a que estos organismos tienen que crecer, estabilizarse y comenzar a producir las enzimas hidrolíticas.(78) Los hongos de pudrición blanca son uno de los microorganismos utilizados, debido a su alta capacidad de enzimas ligninolíticas, como lacasas, manganeso peroxidasas (MnP) y peroxidasas (Lip), ya que se trata de un polímero difícil de eliminar.(79)

La desventaja de este pretratamiento es que, debido al uso de microorganismos vivos, se debe controlar rigurosamente factores como pH, la composición del medio de cultivo, los nutrientes, y elegir bien el consorcio de microorganismos usados, para evitar así interacciones indeseadas o competencia entre las mismas.(80)

7.5. PRETRATAMIENTOS FISICOQUÍMICOS

Este tipo de pretratamientos combinan los efectos de la acción física y química. Actúan rompiendo la estructura cristalina de la celulosa, desestructurando la matriz lignocelulósica y aumentando el área superficial. Este efecto se combina con la hidrólisis de los enlaces de hidrógeno y éster entre los tres biopolímeros, contribuyendo a que se solubilice la lignina y parte de la hemicelulosa, incrementando todavía más el área accesible de las enzimas hidrolíticas sobre la celulosa. Sin embargo, el uso de elevadas temperaturas produce compuestos que inhiben la posterior fermentación. La formación de estos compuestos se incrementa en aquellos tratamientos con condiciones más severas.(81,82)

· Explosión de vapor

Consiste en someter a la biomasa lignocelulósica a vapor de agua saturado a altas presiones y temperatura (190°C -240°C) durante un corto periodo de tiempo (entre 1 y 10 minutos) y a continuación se produce una rápida despresurización del sistema.(83)

Las altas presiones provocan que el vapor se condense, impregnando el material lignocelulósico, que sufre una descompresión explosiva, alterando la estructura de las fibrillas y rompiendo enlaces inter e intramoleculares de la lignina.(84)

La transformación química se debe a la rotura de los enlaces glucosídicos de la hemicelulosa y la desestabilización de la lignina.(85)

Como resultado, la explosión con vapor hidroliza casi toda la hemicelulosa y una pequeña parte de la lignina. Todo esto conlleva a una degradación de la matriz lignocelulósica, aumentando así la superficie efectiva sobre la que pueden actuar las enzimas sobre la celulosa, ya que reduce las áreas cristalinas de este polímero. Los residuos acetilo de la hemicelulosa de xilano se liberan en forma de ácido acético, que actúa como catalizador favoreciendo la hidrólisis de mayor cantidad de hemicelulosa.(86,87)

Es un pretratamiento muy eficaz en residuos agrícolas (caña de azúcar, paja) y en maderas duras (sauce, haya), pero no tanto para maderas blandas, ya que contienen mayor cantidad de lignina y un menor número de grupos acetilo en el polímero de hemicelulosa. (66)

Las principales variables del proceso son la temperatura, la presión, el tiempo de residencia y el tamaño de partícula, que varían dependiendo del tipo de biomasa utilizado como material de partida (88). A continuación, se citan varios ejemplos:

Para la paja de cereales, se usan temperaturas comprendidas entre los 210°C y los 290°C, una presión de 20-50 bares y un tiempo de residencia de entre 1-5 minutos.(89)

Para la paja de trigo, la temperatura necesaria es de 180°C y una presión de 10 bares durante 15 minutos. La relación kg biomasa/kg de agua es de 1:10.(90)

Las condiciones óptimas para el bagazo de caña son 190°C y 10 minutos de tiempo de residencia.(91)

La principal ventaja es que se puede usar con partículas de mayor tamaño. Esto supone que se puede realizar directamente sobre la biomasa sin necesidad de una molienda o un tratamiento mecánico anterior. Esto es importante, ya que los costes asociados a la molienda pueden llegar a ser muy altos. Además, puesto que no hace uso de catalizadores ácidos, es mas respetuoso con el medio ambiente.(92)

Los inconvenientes de este pretratamiento son la destrucción de xilosas y la formación de compuestos inhibidores derivados de la hemicelulosa hidrolizada. La formación de estos compuestos depende de la dureza del tratamiento aplicado y será necesario un lavado con agua del material una vez pretratado para la eliminación de estos compuestos.(60)(83)

El uso de temperaturas más altas produce una mayor degradación de la hemicelulosa pero mayor producción de compuestos inhibidores o tóxicos que dificultan la hidrólisis y fermentación de los azúcares resultantes. Todo esto repercute en los costes de producción; ya que es necesario mayor cantidad de enzimas para la hidrólisis.(93)

También se puede llevar a cabo este pretratamiento en dos etapas. En la primera etapa se hidroliza la hemicelulosa y se separa en una fracción líquida, que contiene la hemicelulosa solubilizada y una fracción sólida, donde se encuentra la fracción celulósica. Esta fracción sólida se pretrata de nuevo con vapor, aplicando unas condiciones más duras con una mayor temperatura, provocando la ruptura de los enlaces de carbohidratos. Al eliminar la fracción hidrolizada de hemicelulosa, se incrementa la accesibilidad de las enzimas a la celulosa y se producen menos compuestos inhibidores. (94)

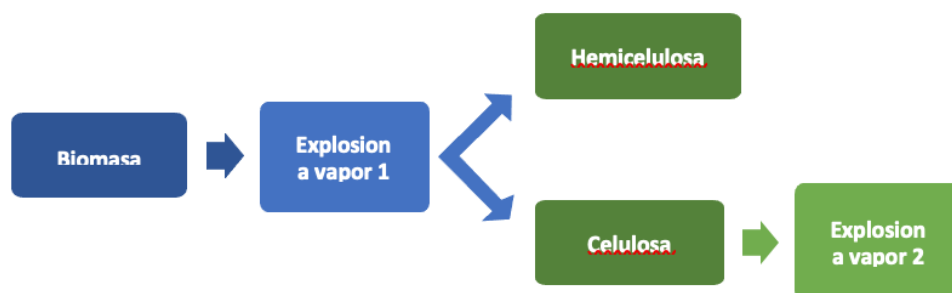


Figura 14: Diagrama del proceso de explosión a vapor en dos etapas. Fuente: Elaboración propia.

Se puede mejorar el pretratamiento si se añade un catalizador ácido como el H_2SO_4 o el SO_2 . Permite usar menores temperaturas, lo que conlleva una menor formación de compuestos que inhiben la posterior fermentación, incrementando la recuperación de pentosas por parte de la hemicelulosa. La adición de un catalizador es recomendable en el uso de maderas blandas, debido al menor contenido de residuos acetilados y mayor contenido de lignina, ya que se forma menos ácido acético por la degradación de estos residuos. Sin embargo, se produce un aumento de los costes debido a la necesidad de una posterior neutralización y el uso de equipos más resistentes a la corrosión. (87,92,95)

· Agua líquida caliente (LHW)

Solubiliza prácticamente la totalidad de la hemicelulosa, provocando una despolimerización y solubilización parcial de la lignina, debido a la recondensación de los componentes solubles de este polímero.(96)

El resultado es un aumento la superficie accesible de la celulosa para su posterior degradación. Las condiciones de temperatura menos severas disminuyen la formación de compuestos inhibidores.(87)

Consiste en tratar la biomasa con agua a una temperatura entre los 140°C - 230°C , a altas presiones (5Mpa), que permiten mantener el agua en estado líquido. (97)

Se obtiene así una fracción líquida rica en hemicelulosa y otra sólida rica en celulosa. Cuanto mayor sea la cantidad de lignina solubilizada en la fracción líquida, mayor será el rendimiento de la fermentación posterior.(98)

La alta temperatura junto con los iones hidronio actúan liberando los grupos acetilo de las cadenas de hemicelulosa, que dan como resultado la formación de ácido acético. Este ácido actúa como catalizador, en un proceso denominado “autohidrólisis”.(99)

Para el rastrojo de maíz, se puede obtener un 90% de la conversión de la celulosa tras la hidrólisis sometiénolo a 190°C durante 15 minutos.(100)

Para el bagazo de caña de azúcar la temperatura desciende a los 180°C pero el tiempo de residencia en el reactor aumenta hasta los 20 minutos.(101) Este pretratamiento es muy eficaz en residuos herbáceos, como la paja de trigo (102), el rastrojo de maíz (103) y el bagazo de caña de azúcar (104).

La formación de ácido acético tiene la desventaja de reducir el pH hasta valores ácidos comprendidos entre 2 y 4, provocando la aparición de compuestos inhibidores de la posterior fermentación de los azúcares. Para ello se puede contrarrestar la bajada de pH añadiendo compuestos alcalinos como el NaOH o KOH. Se mantiene así el pH en valores entre 5 y 7. A este

pH los azúcares que provienen de la hemicelulosa quedan en forma de oligómeros, disminuyendo así la formación de moléculas inhibitorias. El problema es que estos oligómeros resultantes de la hemicelulosa tienen una difícil fermentación posterior, obteniendo un menor rendimiento en la producción de biocombustibles.(60,66)

La principal desventaja del pretratamiento con agua caliente líquida es el alto consumo de energía requerido para el proceso posterior debido a la participación de una gran cantidad de agua. Sin embargo, la ventaja de este proceso es que no se requieren productos químicos ni catalizadores y no se forma ningún inhibidor.(88)

· AFEX (Explosión de Fibra de Amoníaco)

En este proceso se trata la biomasa con amoníaco líquido, a temperaturas entre los 60°C y 140°C, a altas presiones (250-300psi) en un reactor. A continuación, se lleva a cabo una descompresión rápida.(60,105)

Esta descompresión provoca que el gas amoníaco penetre en la biomasa lignocelulósica, interrumpiendo los enlaces lignina-carbohidrato. Como resultado se obtiene la hidrólisis de los enlaces éster que unen a la lignina con la hemicelulosa, separando así la lignina, descristalizando la celulosa y aumentando la accesibilidad de las enzimas al ataque de celulosa.(87,106)

Las variables que intervienen en este proceso son cuatro: la humedad de la biomasa a pretratar, el tiempo de residencia de la biomasa en el reactor, la temperatura a la cual se realiza el pretratamiento y la relación kg NH₃/ Kg de biomasa.(107)

Para el rastrojo de maíz los mejores resultados se obtienen con una humedad del 60%, una temperatura de 90 °C, una relación de carga NH₃/biomasa de 1:1 y un tiempo de residencia en el reactor de 5 minutos. El rendimiento teórico para este residuo es del 98% de glucosa y del 80% para la xilosa. (105)

Para el bagazo de sorgo y de azúcar se necesitan temperaturas cercanas a los 140°C, una carga de amoníaco/biomasa de 2:1 y 1:1 respectivamente y mayores tiempos de residencia (entre 30 y 60 minutos respectivamente). Se obtienen rendimientos de glucano y xilano del 80% y 90% respectivamente. (106,108)

Este pretratamiento se ha empleado con gran eficacia en residuos agrícolas cuyo contenido de lignina no supera el 15% de la masa total, con rendimientos tras la hidrólisis de la hemicelulosa y celulosa del 90%. Sin embargo, no es tan efectivo en maderas duras y blandas, con un contenido de lignina entre el 20-35%, cuya conversión tras la hidrólisis no llega al 50%. (87,109,110)

Este pretratamiento tiene varias ventajas. No produce compuestos inhibidores al no usar condiciones de pretratamiento tan severas como a la explosión de vapor, ni requiere una molienda previa de la biomasa, abaratando mucho el coste del proceso. (66,106,110) Además, se de un proceso seco. Al finalizar se obtiene el total de la biomasa seca, lista para seguir con el tratamiento hidrolítico, logrando conseguir conversiones del 90 %.(111)

Sin embargo, presenta algunas desventajas. Al no separarse los componentes principales, es necesario un cóctel enzimático de hemicelulasas y celulasas mayor para obtener los azúcares monoméricos para su posterior fermentación. La xilosa no puede usarse para obtener otros derivados como el xilitol, un sustituto alimentario muy apreciado. muy apreciado. El mayor obstáculo sigue siendo la necesidad de recuperar el amoníaco, encareciendo mucho el proceso y dificultando su aplicación a escala. (106,112)

· Explosión con CO₂:

Se trata de una variación del pretratamiento de explosión de vapor. El CO₂ se aplica como un fluido supercrítico (Tª Crítica =31°C y P Crítica =73 Bares). Un fluido supercrítico es que se encuentra por encima de su presión y temperatura críticas. En este punto de presión y temperatura no se puede saber si tiene un líquido o gas, por lo que se habla de fluido.(113)

Este fluido presenta propiedades distintas a la de los líquidos o gases en su estado basal ~~estándar~~. Presenta una viscosidad y difusión similar a los de gases, permitiéndole penetrar en los poros de pequeño tamaño que tiene la biomasa lignocelulósica. Por otra parte, presenta una densidad similar a la del líquido, lo que lo convierte en un disolvente eficaz para retener mayor cantidad de líquido. Estas características lo convierten en un buen disolvente para procesos de extracción. (114)(115)

A temperaturas cercanas a los 200°C el CO₂ se disuelve en el agua, formando ácido carbónico, que penetra en el interior de la biomasa hidrolizando la hemicelulosa y la lignina. Transcurrido el tiempo necesario, se disminuye la temperatura del reactor, desplazando el equilibrio químico hacia la formación de CO₂ y se produce una liberación explosiva de este gas, desestructurando la biomasa lignocelulósica, aumentando la superficie accesible para el ataque enzimático para facilitar la digestión de la celulosa.(90)(62)(91)

Este hecho permite que la fácil recuperación del CO₂ para su posterior reutilización. Se trata de un disolvente que no es tóxico ni produce compuestos corrosivos durante su uso. Sin embargo, el elevado coste de los equipos para mantener la alta demanda de presión limita su uso a gran escala, en comparación con otros pretratamientos como AFEX o la explosión de vapor. (53)(92)

Para el rastrojo de maíz, se han realizado estudios en la que las condiciones de pretratamiento eran de 180°C, 15Mpa durante una hora, donde se obtuvieron rendimientos de azúcar del 77,8%, más cercanos los obtenidos por explosión de vapor.(93)

· Oxidación húmeda:

Este pretratamiento se trata a la biomasa lignocelulósica con agua usando el oxígeno o aire como catalizador, a temperaturas en torno a los 120 °C, aplicando una presión de 0,5-2 MPa durante aproximadamente 30 minutos.(120)

Produce la hidrólisis de la hemicelulosa y la oxidación de la lignina, siendo muy eficaz en la eliminación de esta última, mientras que la celulosa se resulta menos afectada. Mediante el uso de agentes químicos como el peróxido alcalino se consigue disminuir la formación de inhibidores como el furfural o el HMF. Los parámetros que determinan una mayor o menor eficacia de este pretratamiento son la temperatura, la presión del oxígeno y el tiempo de reacción.(121,122)

Para la cáscara de arroz se realizó el pretratamiento a 185 °C, 0.5 MPa durante 15 minutos. Los resultados mostraron una eliminación del 89% de la lignina, aumentando la accesibilidad de la celulosa para la posterior hidrólisis y fermentación.(123)

La principal ventaja de este pretratamiento es que produce menos compuesto inhibidores que la explosión de vapor o el tratamiento con agua caliente (LHW), pero su aplicación a gran escala sigue siendo muy costosa.(74)

8. CONCLUSIONES

Este documento ha intentado agrupar las investigaciones realizadas en los últimos años. Finalizada la revisión bibliográfica, debemos comentar varios aspectos.

Los pretratamientos fisicoquímicos tienen un gran potencial para desestructurar la compleja matriz lignocelulósica, eliminando los contenidos no celulósicos y mejorando la posterior conversión de los monómeros resultantes.

La tabla 1 recoge las principales ventajas y desventajas de esta clase de pretratamientos aplicados en los residuos agrícolas.

Pretratamiento	Ventajas	Desventajas
Explosión de vapor	<ul style="list-style-type: none"> · Bajo coste · Hidroliza la hemicelulosa · Desestructura la matriz · No es necesario un tamaño pequeño de partícula 	<ul style="list-style-type: none"> · Alta formación de compuestos inhibidores. · Destruye las xilas
LHW	<ul style="list-style-type: none"> · Baja formación de compuestos inhibidores · Solubiliza casi toda la hemicelulosa · Aumenta mucho la superficie accesible 	<ul style="list-style-type: none"> · Alto consumo energético · Solubilización parcial de lignina
AFEX	<ul style="list-style-type: none"> · Separa la lignina · Descristaliza la celulosa · No es necesario un tamaño pequeño de partícula · Rendimientos altos de azúcares 	<ul style="list-style-type: none"> · No solubiliza la hemicelulosa · Coste alto para recuperar el NH_3.
Explosión con CO_2	<ul style="list-style-type: none"> · Hidroliza tanto la hemicelulosa como la lignina. · Gran aumento de la superficie accesible. · No produce compuestos inhibidores 	<ul style="list-style-type: none"> · Coste elevado · Menores rendimientos que explosión a vapor
Oxidación húmeda	<ul style="list-style-type: none"> · Elimina la lignina · Hidroliza la hemicelulosa · No forma compuestos inhibidores 	<ul style="list-style-type: none"> · No ataca a la celulosa · Coste elevado

Tabla 1: Principales ventajas y desventajas de los distintos pretratamientos fisicoquímicos aplicables a la biomasa lignocelulósica. Fuente: Elaboración propia

El pretratamiento fisicoquímico más utilizado sigue siendo el de explosión a vapor, gracias a su alta eficacia y bajo coste. Sin embargo, el principal cuello de botella sigue siendo la alta formación de compuestos que inhiben la posterior fermentación, siendo una de las principales limitaciones a la hora de emplear este tipo de pretratamientos.

Debemos señalar la escasa uniformidad de la información publicada actualmente con relación a las distintas condiciones de operación, duración y demás parámetros escogidos en función del tipo de tratamientos. La gran diversidad de biomasa existente dificulta la elaboración de un protocolo general eficaz y rentable para la producción de biocombustibles.

Esta revisión resalta la importancia de combinar los diferentes tipos de pretratamientos (físicos, químicos, biológicos y fisicoquímicos) con el fin de aprovechar al máximo el potencial económico de estos residuos, abaratando los costes en la producción de biocombustibles y contribuyendo a la reutilización de residuos producidos en grandes cantidades.

Debemos destacar lo prometedor que es el uso de este tipo de materia prima. Gracias a la reutilización de estos residuos, estamos produciendo combustible orgánico alternativo al uso de los combustibles fósiles, contribuyendo a generar una menor cantidad de gases de efecto invernadero (GEI).

Sin embargo, uno de los principales problemas a la hora de reciclar estos residuos sigue siendo su transporte y almacenado hasta las biorrefinerías. Es necesario la instalación de biorrefinerías en las proximidades donde se produce esta biomasa. De nada sirve intentar aprovechar estos residuos en la producción de combustibles renovables, si para ellos son necesarios grandes gastos en transporte y logística, encareciendo así el coste de su producción y además consumiendo combustible fósil para su traslado.

9. CONCLUSIONS

This paper has attempted to bring together research carried out in recent years. Having completed the literature review, we should comment the next aspects.

Physical-chemical pre-treatments have a great potential to destructure the complex lignocellulosic matrix, removing the non-cellulosic contents and improving the subsequent conversion of the resulting monomers.

The table lists the main advantages and disadvantages of these kinds of pre-treatments applied to agricultural residues.

Pretreatment	Advantages	Disadvantages
Steam Explosion	<ul style="list-style-type: none"> • Low cost • Hydrolyses hemicellulose • Destructs the matrix • No need for small particle size 	<ul style="list-style-type: none"> • High formation of inhibitory compounds • Destroys xyloses
LHW	<ul style="list-style-type: none"> • Low formation of inhibitory compounds • Solubilises almost all hemicellulose • Greatly increases the accessible surface area 	<ul style="list-style-type: none"> • High energy consumption • Partial lignin solubilisation
AFEX	<ul style="list-style-type: none"> • Separates lignin • Decrystallises cellulose • Small particle size is not necessary • High sugar yields 	<ul style="list-style-type: none"> • Does not solubilise hemicellulose • High cost to recover NH_3
CO_2 Explosion	<ul style="list-style-type: none"> • Hydrolyses both hemicellulose and lignin • Large increase in accessible surface area • Does not produce inhibitory compounds 	<ul style="list-style-type: none"> • High cost • Lower yields than steam explosion
Wet oxidation	<ul style="list-style-type: none"> • Removes lignin • Hydrolyses hemicellulose • Does not form inhibitory compounds 	<ul style="list-style-type: none"> • Does not attack cellulose • High cost

Table 1: Main advantages and disadvantages of different physical-chemical pre-treatments for lignocellulosic biomass. Source: Own elaboration

The most widely used physical-chemical pre-treatment is still the steam explosion pre-treatment, due to its high efficiency and low cost. However, the main bottleneck is still the high formation of compounds that inhibit the subsequent fermentation, which is one of the main limitations when using this type of pretreatment.

It should be noted that there is little uniformity in the information currently published regarding the different operating conditions, duration and other parameters chosen depending on the type of treatment. The great diversity of biomass makes it difficult to develop an efficient and cost-effective general protocol for biofuel production.

This review highlights the importance of combining different types of pre-treatments (physical, chemical, biological, and physical-chemical) in order to maximize the economic potential of these wastes, lowering the costs of biofuel production and contributing to the reuse of waste produced in large quantities.

It should be noted how promising the use of this type of raw material is. Thanks to the reuse of this waste, we are producing organic fuel as an alternative to the use of fossil fuels, contributing to the generation of fewer greenhouse gases (GHG).

However, one of the main problems in recycling this waste is still its transport and storage to biorefineries. Biorefineries need to be installed in the vicinity where this biomass is produced. There is no point in trying to use this waste to produce renewable fuels if they require large transport and logistics costs, thus increasing the cost of their production and also consuming fossil fuels for their transport.

10. ANEXOS

ANEXO 1

En esta gráfica observamos como el número de publicaciones aumenta de manera llamativa desde el año 2007 con apenas 1000 publicaciones anuales hasta las 6000 en la que nos encontramos actualmente.

El dato del número de publicaciones en este año es menor al resto debido a que la búsqueda de la información se ha hecho durante la primera mitad del año.

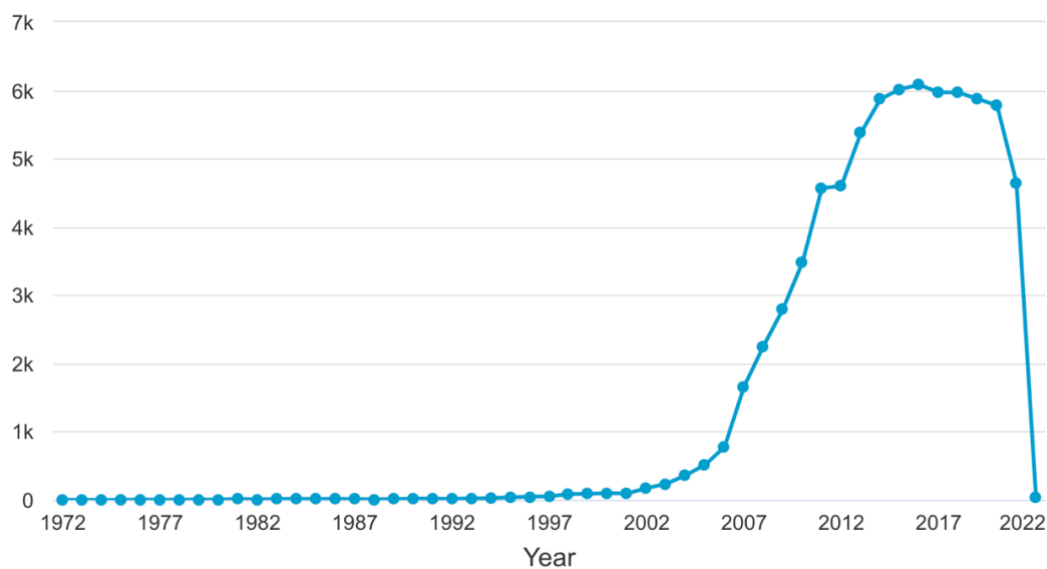


FIGURA 1: GRÁFICA DE ARTÍCULOS PUBLICADO AL AÑO EN SCOPUS CADA AÑO QUE CONTIENEN LA PALABRA “BIOFUEL”. *Fuente:* Elaborado por Scopus al analizar los resultados de la búsqueda de artículos referentes a los biocombustibles

Aquí se muestran los países con mas publicaciones al año, siendo Estados Unidos la que encabeza el grupo, con más de 18000 artículos al año, seguida de China, India y Brasil.

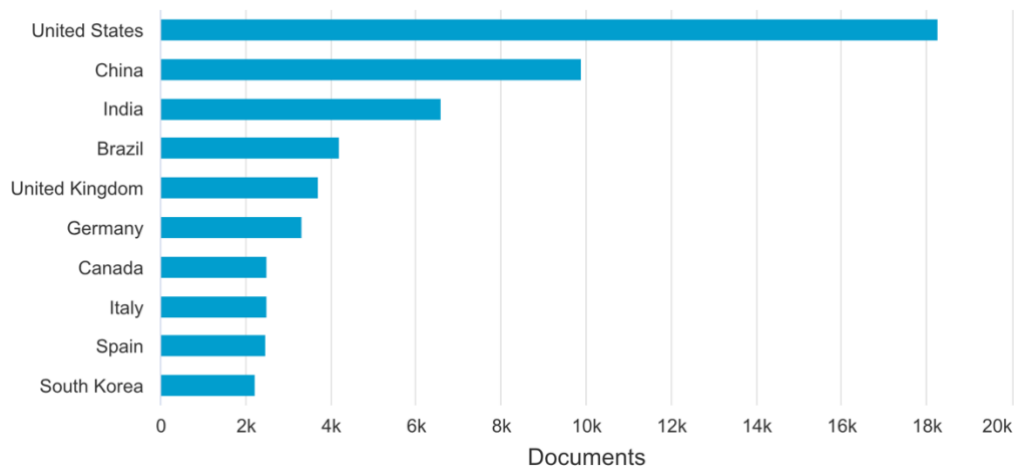


FIGURA 2: PRINCIPALES PAÍSES QUE HAN DEPOSITADO ARTÍCULOS RELACIONADOS CON LOS BIOCOMBUSTIBLES EN SCOPUS. *Fuente:* Elaborado por Scopus al analizar los resultados de la búsqueda de artículos referentes a los biocombustibles

Si hablamos sobre que instituciones son las que más publicaciones depositan en Scopus, la Academia China de Ciencias es la pionera en el mundo, seguida del Ministerio de Educación China y la Universidad de Sao Paulo.

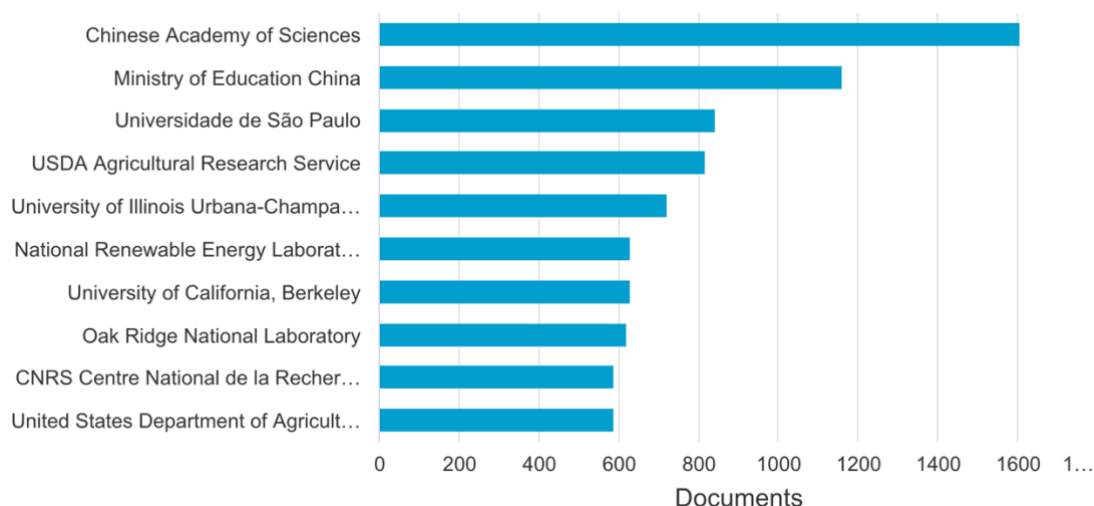


FIGURA 3: PRINCIPALES INSTITUCIONES CON MÁS PUBLICACIONES CON RELACIÓN A LOS BIOCOMBUSTIBLES EN SCOPUS. *Fuente:* Elaborado por Scopus al analizar los resultados de la búsqueda de artículos referentes a los biocombustibles

Si atendemos a los distintos campos sobre los que se escriben estos documentos acerca de los biocombustibles, vemos que las que destacan son la Energía (17.5%), Ciencia Medioambiental (17.5) y la Ingeniería química (13.7%).

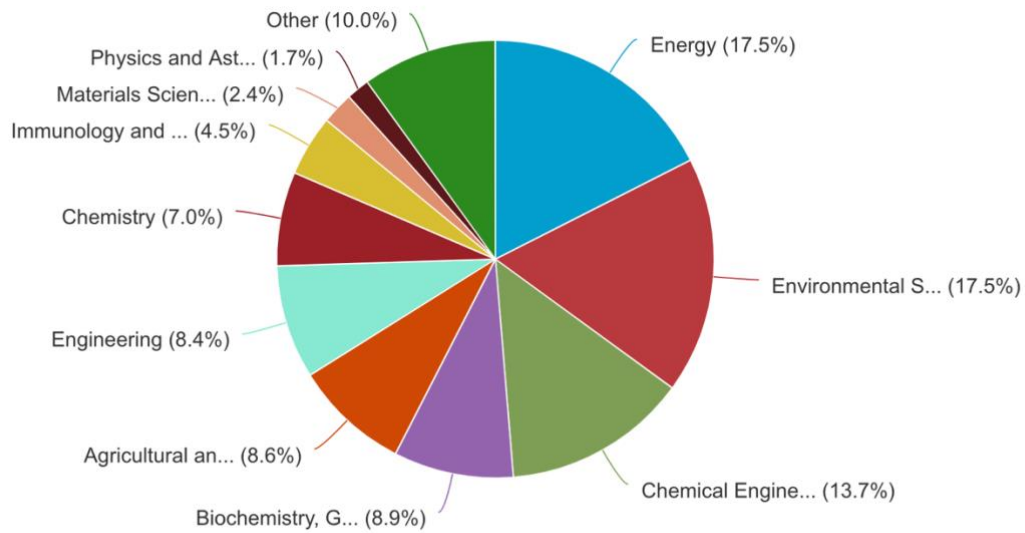


FIGURA 4: PRINCIPALES ÁREAS DE INVESTIGACIÓN SOBRE LOS ARTÍCULOS DEPOSITADOS EN SCOPUS CON REFERENCIA A LOS BIOCOMBUSTIBLES. *Fuente:* Elaborado por scopus al analizar los resultados de la búsqueda de artículos referentes a los biocombustibles.

ANEXO 2

Se muestra un gráfico con las producciones de biocombustibles realizadas por los distintos países en miles de toneladas durante el año 2018.

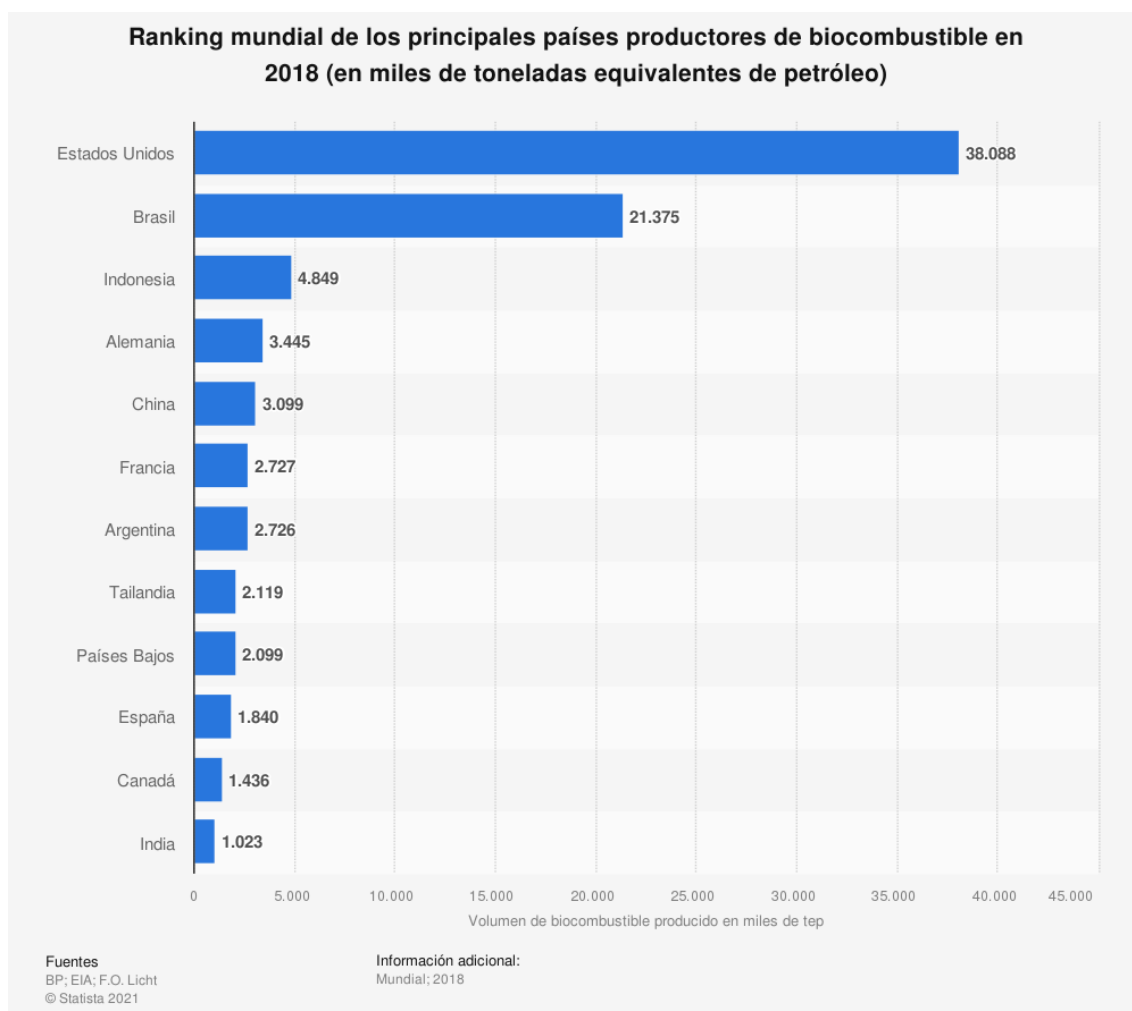


FIGURA 5: PRINCIPALES ÁREAS DE INVESTIGACIÓN SOBRE LOS ARTÍCULOS DEPOSITADOS EN SCOPUS CON REFERENCIA A LOS BIOCMBUSTIBLES. *Fuente:* Statista <https://es.statista.com/estadisticas/635730/paises-lideres-en-la-produccion-de-biocarburante/>

ANEXO 3

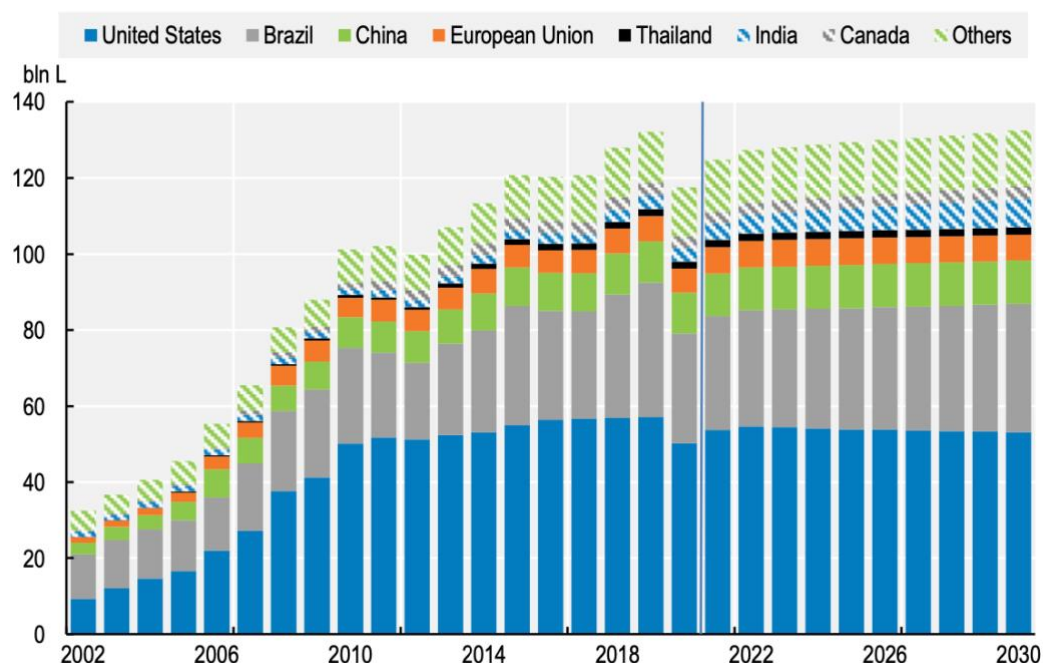


FIGURA 6: DESARROLLO EN EL CONSUMO DE BIOETANOL DESDE EL 2002 HASTA LA ACUTALIDAD Y SUS PERSPECTIVAS DE CONSUMO EN EL FUTURO. *Fuente:* OECD/FAO (2021), “OECD-FAO agricultural outlook”, oecd agriculture statistics (database), <http://dx.doi.org/10.1787/agr-outl-data-en>.

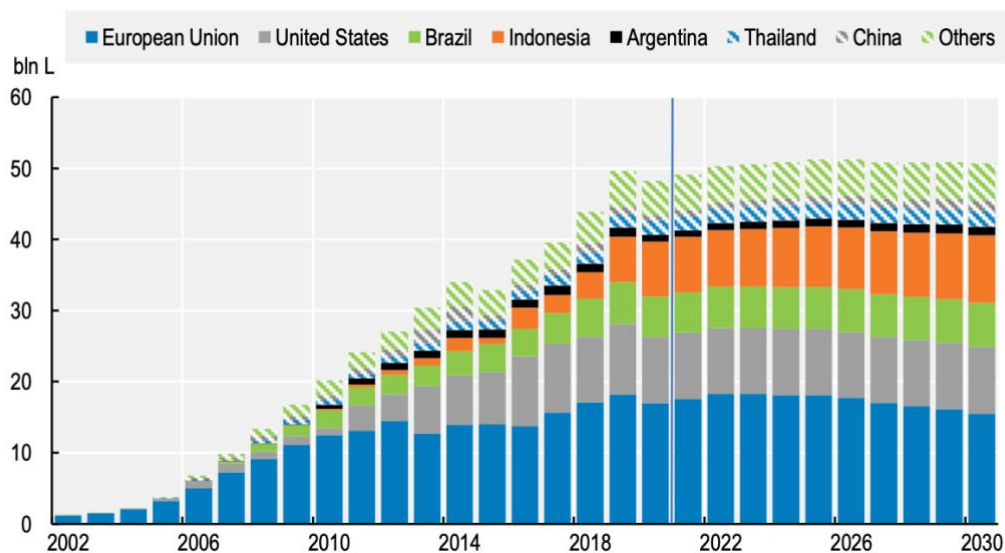


FIGURA 7: DESARROLLO EN EL CONSUMO DE BIODIESEL DESDE EL 20021 A LA ACTUALIDAD Y SUS PERSPECTIVAS DE CONSUMO EN EL FUTURO. *Fuente:* OECD/FAO (2021), “OECD-FAO agricultural outlook”, oecd agriculture statistics (database), <http://dx.doi.org/10.1787/agr-outl-data-en>.

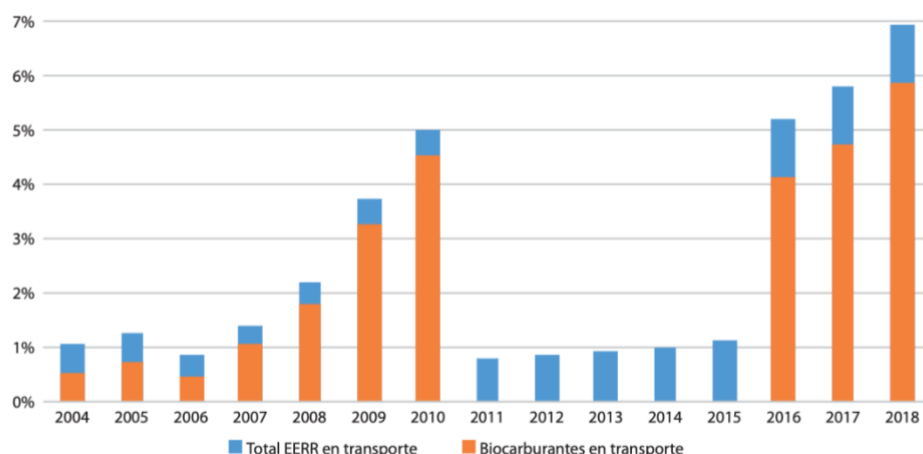


FIGURA 8: PORCENTAJE DE BIOCÁRBURANTES PRESENTE SOBRE EL TOTAL DE LOS COMBUSTIBLES EN EL SECTOR TRANSPORTE. *Fuente:* Libro de la energía 2018, ministerio para la transición ecológica y el reto demográfico.

La siguiente figura muestra el porcentaje que representan los tres principales biocombustibles utilizados en el sector transporte sobre el total de los mismos. El biodiesel es el más empleado, siendo el 75% del total de los biocombustibles implantados en el sector transporte, seguido del Bioetanol (16%) y el HVO (9%).

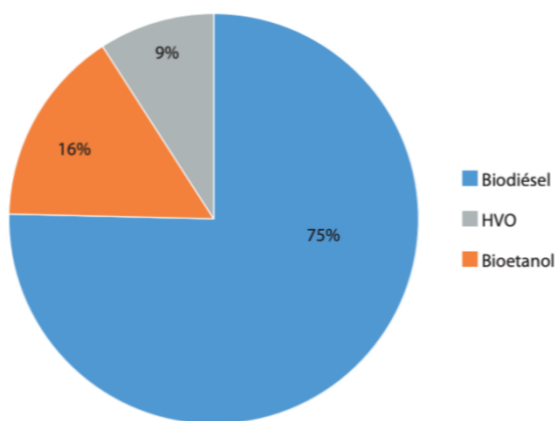


FIGURA 9: PORCENTAJE DE LOS DISTINTOS BIOCOMBUSTIBLES EMPLEADOS EN EL SECTOR TRANSPORTE. *Fuente:* Libro de la energía 2018, ministerio para la transición ecológica y el reto demográfico.

ANEXO 4

Cultivo	Extraíbles	Cenizas	Lignina	Acido urónico	Arabinano	Xilano	Manano	Galactano	Celulosa
Bagazo de caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum</i>)	3.78	3.66	23.09	2.16	2.06	22.05	0.35	0.46	39.01
Rastrojo de maíz	5.61	10.06	18.59	2.99	2.42	21.61	0.38	0.87	37.69
Paja de trigo	12.95	10.22	16.85	2.24	2.35	19.22	0.31	0.75	32.64
<i>Pinus radiata</i>	2.7	0.3	25.9	2.5	1.6	5.9	10.7	2.4	41.7
Alamo híbrido	6.89	2.03	25.18	4.31	0.89	13.07	1.81	0.88	39.23
Eucalyptus	4.15	1.22	26.91	4.07	0.3	10.42	1.23	0.74	48.07
'Switchgrass (alamo)' (<i>Panicum virgatum</i>)	16.99	5.76	17.56	1.17	2.75	20.42	0.29	0.92	30.97
Sorgo dulce (<i>Sorghum bicolor</i>)	22.03	5.04	16.09	1.07	1.65	14.14	0.2	0.52	34.01

FIGURA 10: PORCENTAJES DE LOS DISTINTOS COMPUESTOS DE LOS RESIDUOS AGRÍCOLAS MÁS USADOS EN LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES. *Fuente:* Pepijn Prinsen ; “Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas” 92, 2010

ANEXO 5

Podemos observar la estructura recalcitrante de la matriz lignocelulósica. Tras los pretratamientos se observa como se hidroliza la lignina y la hemicelulosa, separando los 3 componentes de la matriz y disminuyendo las áreas cristalinas de la celulosa.

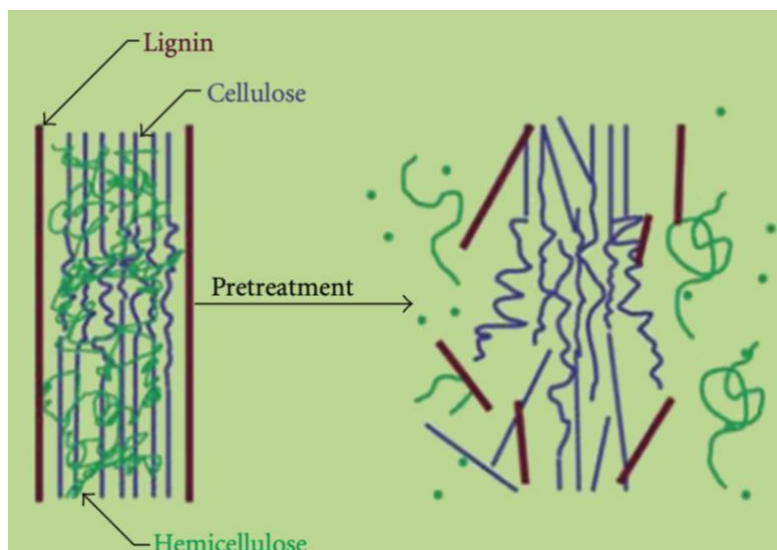


FIGURA 11: ESTRUCTURA DE LA MATRIZ LIGNOCELULÓSICA. *Fuente: N.Moisier, B.Dale et al., "Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass," bioresource technology, vol. 96, no. 6, pp. 673–686, 2005*

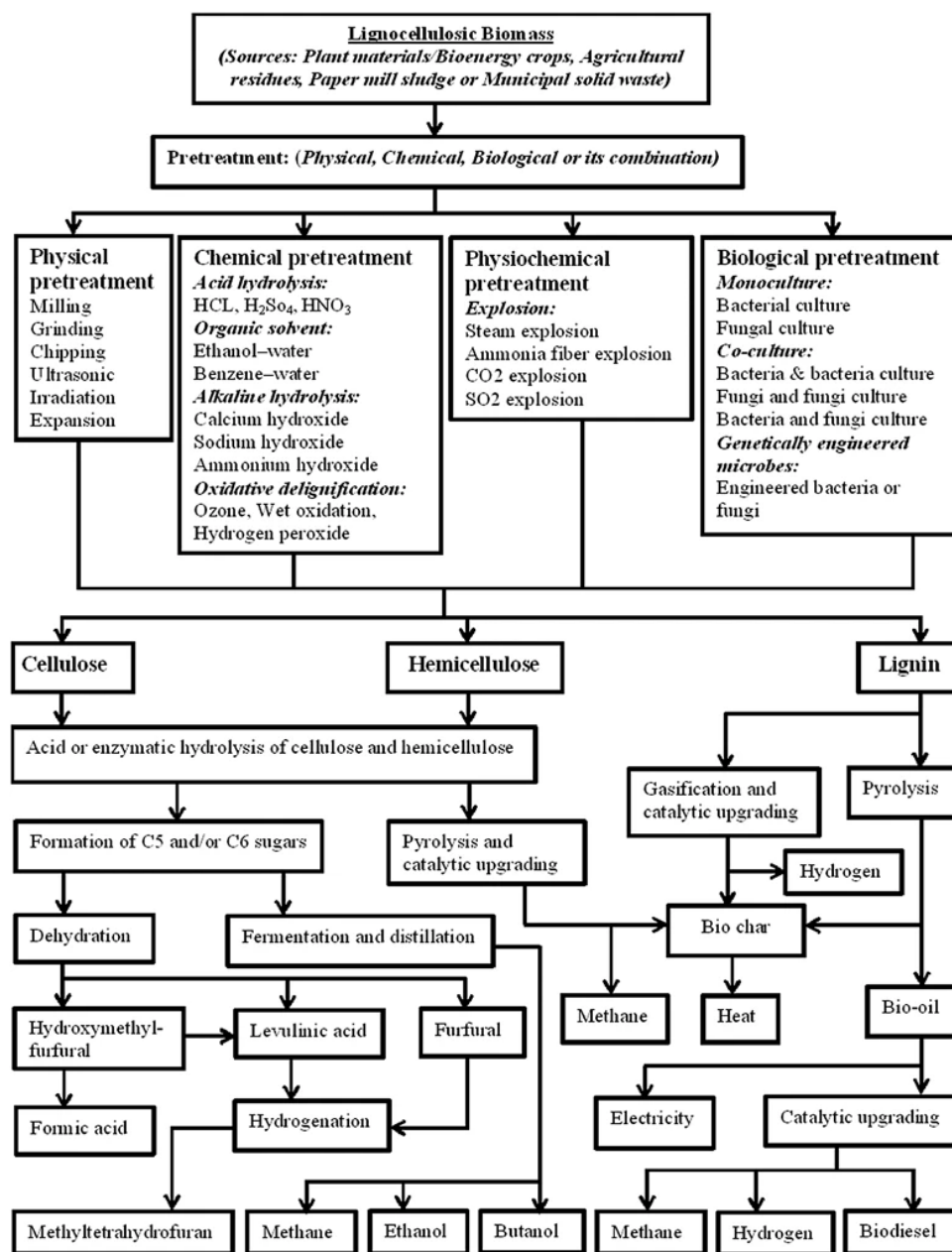


FIGURA 12: DIFERENTES PRODUCTOS DERIVADOS DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA. Fuente: Hem Kanta Sharma; Chunbao Xu; Wensheng Qin; "Biological pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and bioproducts: an overview"; 2017

ANEXO 6

Compuestos inhibidores producidos durante el pretratamiento de los materiales lignocelulósicos mediante explosión de vapor.

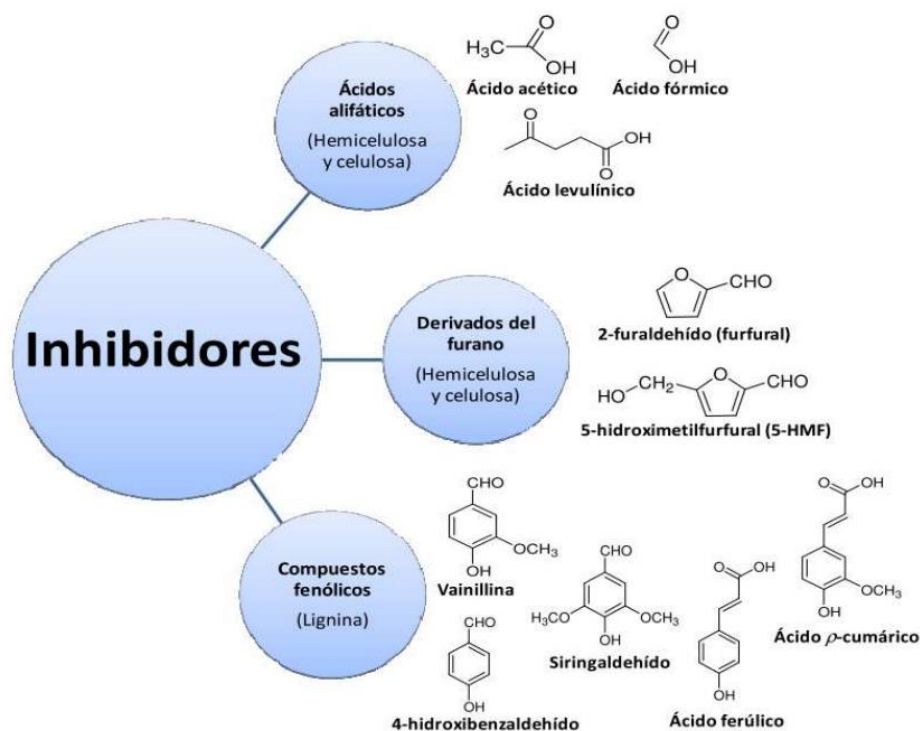


FIGURA 13: COMPUESTOS INHIBIDORES DERIVADOS DEL PRETRATAMIENTO DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA. Fuente Antonio Moreno García; “Estudio de enzimas oxidorreductasas en la transformación de biomasa lignocelulósica en biocombustibles” ;2013

9.BIBLIOGRAFIA

1. Sandra P, Portillo R. Impacto ambiental de los combustibles fósiles. 2021;(February):1–7.
2. Serna F, Barrera L, Montiel H. Impacto social y económico en el uso de biocombustibles. *Journal of Technology Management and Innovation*. 2011;6(1):100–14.
3. OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030. 2021.
4. Alakangas E, Valtanen J, Levlin JE, Arzola NA, Gómez A, Rincón S, et al. Quality Characteristics of Biofuel Pellets. *Biomass and Bioenergy* [Internet]. 2014;33(3):7176–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2008.08.005><http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.12.027><http://dx.doi.org/10.1016/j.fuproc.2010.11.031><http://www.sciencedirect.com/journal/paperinfo.aspx?journalid=169&doi=10.11648/j.ijrse.201302>
5. Francisco-Marcos M. Pélets y briquetas. *Revista AITIM* 171 [Internet]. 1995;54–62. Available from: https://infomadera.net/uploads/articulos/archivo_2293_9990.pdf
6. Herguedas A, Taranco C, Rodríguez E, Paniagua prado. Biomasa, Biocombustibles Y Sostenibilidad. *Transbioma*. 2012;13(2):105–9.
7. Agencia Andaluza de la Energía. Manual Técnico de Uso de Biocarburantes en Motores de Automoción. Fundación Cidaut [Internet]. 2009; Available from: http://www.agenciaandaluzadelaenergia.es/sites/default/files/3_biocarburantes_25-9-2009.pdf
8. Demirbas A. Competitive liquid biofuels from biomass. *Applied Energy* [Internet]. 2011;88(1):17–28. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.07.016>
9. Casado M, Contreras A, Prado D, Saavedra K. Síntesis de etil ter-butil éter como oxigenante de gasolinas a partir de isobuteno y bioetanol con una resina de intercambio iónico Synthesis of ethyl tertbutyl ether as oxygenating compound of gasolines from isobutene and bioethanol with an ion exchange . 2019;15–21.
10. Puricelli S, Cardellini G, Casadei S, Faedo D, van den Oever AEM, Grosso M. “A review on biofuels for light-duty vehicles in Europe.” *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [Internet]. 2021;137(November 2019):110398. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110398>
11. Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. La Energía en España. Catálogo de Publicaciones de la Administración General del Estado [Internet]. 2018;290. Available from: <https://cpage.mpr.gob.es>
12. Navarro Soto R. Obtención de biogás a partir de residuos agrícolas y de producción de biodiésel. 2016;
13. Karthikeyan S, Periyasamy M, Mahendran G. “Assessment of engine performance using syngas.” *Materials Today: Proceedings* [Internet]. 2020;33(xxxx):4142–4. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.06.577>

14. AlNouss A, McKay G, Al-Ansari T. Production of syngas via gasification using optimum blends of biomass. *Journal of Cleaner Production* [Internet]. 2020;242:118499. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118499>
15. Romero MG. Biocombustibles y producción de biohidrógeno.
16. Altaf M, Rather H, Alok D, Srivastav K, Abdul APJ. "A Study on Biohydrogen Production based on Biophotolysis from Cyanobacteria." 2021;25(6):12500–9. Available from: <http://annalsofrscb.ro>
17. Andrés S, Londoño B. Producción de biohidrógeno a través de la fermentación oscura de residuos – Revisión crítica. 2013;
18. Naqvi M, Yan J. First-Generation Biofuels. *Handbook of Clean Energy Systems*. 2015;1–18.
19. Naik SN, Goud V v., Rout PK, Dalai AK. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2010;14(2):578–97.
20. Velasco Cristancho AP. Una revisión general de los procesos para la producción de bioetanol de segunda generación a partir de biomasa lignocelulosa. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* [Internet]. 2020;68(1):1–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ndteint.2014.07.001><https://doi.org/10.1016/j.ndteint.2017.12.003><http://dx.doi.org/10.1016/j.matdes.2017.02.024>
21. Cortés-Sánchez MD, Gata-Montero EM, Pipió-Ternero A, Rodríguez Rivas Á, Sánchez-Santos JM. Biocombustibles: tipos y estrategias de producción. *MoleQla: revista de Ciencias de la Universidad Pablo de Olavide* [Internet]. 2019;(35):23. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7094734&info=resumen&idioma=SPA><https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7094734><https://www.upo.es/cms1/export/sites/upo/moleqla/documentos/Numero35/Numero-35.pdf>
22. Faba L, Díaz E, Ordóñez S. Transformación de biomasa en biocombustibles. *Madera y Bosques* [Internet]. 2014;20(3):11–24. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/617/61732732002.pdf>
23. Nanda S, Rana R, Sarangi PK, Dalai AK, Kozinski JA. "A broad introduction to first-, second-, and third-generation biofuels." *Recent Advancements in Biofuels and Bioenergy Utilization*. 2018;1–25.
24. Pal P, Chew KW, Yen HW, Lim JW, Lam MK, Show PL. Cultivation of oily microalgae for the production of third-generation biofuels. *Sustainability (Switzerland)*. 2019;11(19):1–16.
25. Badillo-Corona JA, Millán-Oropeza A, Montiel-Montoya J, Linares-Fernández LC. Production of biofuels obtained from microalgae. *Ra Ximhai Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable* [Internet]. 2012;8(Especial 3b):101–15. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/461/46125177011.pdf>
26. Moravvej Z, Makarem MA, Rahimpour MR. The fourth generation of biofuel [Internet]. *Second and Third Generation of Feedstocks: The Evolution of Biofuels*. Elsevier Inc.; 2019. 557–597. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-815162-4.00020-3>

27. Abdullah B, Syed Muhammad SAF ad, Shokravi Z, Ismail S, Kassim KA, Mahmood AN, et al. Fourth generation biofuel: A review on risks and mitigation strategies. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [Internet]. 2019;107(November 2018):37–50. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.02.018>
28. Dutta K, Daverey A, Lin JG. Evolution retrospective for alternative fuels: First to fourth generation. *Renewable Energy* [Internet]. 2014;69:114–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2014.02.044>
29. Hernández Benítez R, Céspedes Rangel J. BIORREFINERÍA : UNA OPORTUNIDAD ENERGÉTICA PARA EL DESAROLLO BIOECONÓMICO DE LA GUAJIRA. :37–51.
30. Righi S. Life Cycle Assessments of Waste-Based Biorefineries—A Critical Review. *Green Energy and Technology* [Internet]. 2019 [cited 2021 Aug 29];139–54. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-93740-3_9
31. López Giménez F. La Bioenergía y la nueva economía. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952. 2019;1–24.
32. Gonz J. Las biorrefinerías: aplicación a materiales y residuos lignocelulósicos. *Horizonte 2050*. 2018;718–31.
33. Clauser NM. Estudio Tecnico-Económico De La Biorrefinería De Los Residuos De Industrialización Primaria De La Madera Y Agroindustriales. 2018;46.
34. Llanos Cadenillas M, Jimenez Palma AW, Milla Agape FJ, Mendoza León AJ, Castillo Cáceres JM del. Facultad De Ciencias Ambientales Carrera Profesional De Arquitectura Y Urbanismo Ambiental. 2020;0–2.
35. Camps Michelena Manuel, Marcos Martín Francisco. Los biocombustibles (2a. ed.). [Internet]. Mundi-Prensa; 2000 [cited 2021 Aug 31]. 300–385. Available from: <https://elibro.net/es/ereader/unsaac/35849?page=300>
36. Segarra Galán R. Uso de la paja de arroz como acolchado en frutales: efectos sobre la biología, humedad y temperatura del suelo. 2020;
37. Residuos agrícolas I.1 - RED ESPAÑOLA DE COMPOSTAJE - Google Books [Internet]. [cited 2021 Aug 31]. Available from: https://books.google.es/books?hl=en&lr=&id=yL3-CAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA13&dq=GESTI%C3%93N+Y+TRATAMIENTO+DE+RESIDUOS+AGR%C3%8DCOLAS&ots=Ro8xl_6vcl&sig=ngxxB6o1wZbpBMPSzHSoXUzy_ms#v=onepage&q&f=false
38. Velázquez martí B. “Aprovechamiento de la biomasa para su uso energético.” 2018. 69.
39. Matias Prieto J, Maria C. AY, Jerónimo GC, Luis Rolland B. “Aprovechamiento de residuos de poda de árboles de alineación como biocombustible sólido.” *Vida Virtual (Cultivos, Biocombiustíbles)*. 2009;(January):50–3.
40. Cuadros S. “Residuos agrícolas , forestales y lodos.” *Eoi*. 2008;70.
41. Dionisio E. “Aprovechamiento de residuos vegetales para la eliminación de cobre presente en medios acuosos mediante biosorción” [Internet]. 2012. 409. Available from: <http://digibug.ugr.es/handle/10481/23727>

42. Cardona AF, Cabañas DD, Zepeda A. Evaluación del poder biosorbente de cáscara de naranja para la eliminación de metales pesados , Pb (II) y Zn (II) Evaluation of the power of orange peel biosorbent for the removal of heavy metals , Pb (II) and Zn (II). Ingeniería [Internet]. 2013;17(1):1–9. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46729718001>
43. Rivera PJ, Quinteros Rodriguez BJ. FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA 01 Facultad de Ingeniería y Arquitectura [Internet]. Universidad Andina del Cusco. 2020. 1–118. Available from: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/47102/Gutierrez_RS-SD.pdf?sequence=1&isAllowed=y
44. Jiménez González MÁ. “ Aprovechamiento De Residuos Agrícolas E Industriales Para La Obtención De Biocombustibles .” 2017;
45. Batista Meneses D, Montes de Oca-Vásquez G, Vega-Baudrit JR, Rojas-Álvarez M, Corrales-Castillo J, Murillo-Araya LC. Pretreatment methods of lignocellulosic wastes into value-added products: recent advances and possibilities. Biomass Conversion and Biorefinery. 2020;
46. Capítulo 12 Determinación de la Cristalinidad y de la Accesibilidad de las Fibras de Celulosa Mediante Diferentes Técnicas. :1–26.
47. Garea A. Estudio de la obtención de bioetanol a partir de diferentes tipos de biomasa lignocelulósica. Matriz de reacciones y optimización. Escuela politécnica de ingeniería de minas y energía. 2017;1(Septiembre):74.
48. Rivas S. Valorización de hemicelulosas de biomasa vegetal internacional doctoral thesis biomass hemicellulose valorization. 2014;363. Available from: <http://www.investigacion.biblioteca.uvigo.es/xmlui/bitstream/handle/11093/141/Valorización de hemicelulosas de biomasa vegetal.pdf?sequence=1>
49. Pineda Burgos AM, Navarrete Rivadeneira JJ. Obtención de celulosa micro cristalina a partir de la fibra de estopa de coco. Facultad de Ingeniería Química Universidad de Guayaquil [Internet]. 2018;3(2):91. Available from: http://journal.stainkudus.ac.id/index.php/equilibrium/article/view/1268/1127%0Ahttp://publicacoes.cardiol.br/portal/ijcs/portugues/2018/v3103/pdf/3103009.pdf%0Ahttp://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-75772018000200067&lng=en&tlng=
50. Smith GP. The Critical Issue of Excellence and Equity in Competency Testing. Journal of Teacher Education. 1984;35(2):6–9.
51. Guerra L, Zuurro A, Rosselló C, González E. Liberación De Xilosa Y Hemicelulosas En Pretratamientos Al Bagazo De Caña Con Empleo De Ácido Cítrico. Centro Azúcar. 2019;46(2):1–10.
52. Harmsen P, Lips S, Bakker R. Pretreatment of lignocellulose for biotechnological production of lactic acid Research review Colophon Title Pretreatment of lignocellulose for biotechnological production of lactic acid; Research review Author(s) [Internet]. 2013. 5–14. Available from: www.wur.nl

53. Mosier N, Wyman C, Dale B, Elander R, Lee YY, Holtzapple M, et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 2005;96(6):673–86.
54. Espinosa E. Lignonnanofibras de celulosa (LNFC) a partir de residuos agro-industriales no madereros . Obtención , caracterización y aplicaciones. 2019;191.
55. Domine MC-S y ME. Lignina , Estructura Y Aplicaciones : Métodos De Despolimerización Para La Obtención De Derivados Aromáticos De Interés Industrial Lignin , Structure and Applications : Depolymerization Methods for. *Avances en ciencias e ingeniería*. 2013;4(4):15–46.
56. Prinsen P. Caracterización química y estructural de lignina y lípidos de materiales lignocelulósicos de interés industrial. 2013;5–10.
57. Prinsen P. Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial. 2010;92. Available from: http://www.irnase.csic.es/users/delrio/repository_theses/2010-Prinsen-MsC.pdf
58. Sharma HK, Xu C, Qin W. Biological Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuels and Bioproducts: An Overview. 2019;10:235–51. Available from: <https://www.bp.com/>
59. Zheng Y, Zhao J, Xu F, Li Y. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Progress in Energy and Combustion Science* [Internet]. 2014;42(1):35–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pecs.2014.01.001>
60. Alvira P, Tomás-Pejó E, Ballesteros M, Negro MJ. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology* [Internet]. 2010;101(13):4851–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.093>
61. Zheng Y, Shi J, Tu M, Cheng Y-S. Principles and Development of Lignocellulosic Biomass Pretreatment for Biofuels [Internet]. Vol. 2, *Advances in Bioenergy*. Elsevier Ltd; 2017. 1–68. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.aibe.2017.03.001>
62. López-Toledo G. Fermentación de poda de olivo con microorganismos inmovilizados para la obtención de bioetanol. 2020;87.
63. Hendriks ATWM, Zeeman G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 2009;100(1):10–8.
64. Du B, Sharma LN, Becker C, Chen SF, Mowery RA, van Walsum GP, et al. Effect of varying feedstock-pretreatment chemistry combinations on the formation and accumulation of potentially inhibitory degradation products in biomass hydrolysates. *Biotechnology and Bioengineering*. 2010;107(3):430–40.
65. Hernandez C. “Obtención De Bioetanol a Partir De Hidrolizados De Residuos De Fruta.” 2017;
66. Kim D. Physico-chemical conversion of lignocellulose: Inhibitor effects and detoxification strategies: A mini review. *Molecules*. 2018;23(2).
67. Huesemann M, Roesjadi G, Benemann J, Metting FB. Biofuels from Microalgae and Seaweeds. *Biomass to Biofuels: Strategies for Global Industries*. 2010. 165–184.

68. Fabián Rondón Pérez S. Diseño conceptual de dos esquemas de producción de etanol combustible de segunda generación a partir de bagazo de caña de azúcar. Universidad Industrial de Santander. 2009;(57):3.
69. Pereira A. Pretratamientos de materiales lignocelulósicos con el sistema Lacasa-mediador. 2013;1–57.
70. Sun Y, Cheng J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review. *Bioresource Technology*. 2002;83(1):1–11.
71. Orlando MQ, Borja VM. Pretreatment of animal manure biomass to improve biogas production: A review. *Energies*. 2020;13(14).
72. Baruah J, Nath BK, Sharma R, Kumar S, Deka RC, Baruah DC, et al. Recent trends in the pretreatment of lignocellulosic biomass for value-added products. *Frontiers in Energy Research*. 2018;6(DEC).
73. Ravindran R, Jaiswal AK. A comprehensive review on pre-treatment strategy for lignocellulosic food industry waste: Challenges and opportunities. *Bioresource Technology*. 2016;199:92–102.
74. Roy S, Shukla L, Singh SK. Pre-Treatment and Value-Added Lignocellulosic Waste : a Review Products of. 2020;20(2):3431–8.
75. Parrales Paul Arón R, Herrera Christian Duban Z. Estudio comparativo de pretratamientos (ozonólisis y alcalino) en el proceso de obtención de furfural a partir del bagazo de caña mediante simulación con aspen plus. 2021;106.
76. Principal THE, Applied M. Pretratamiento de biomazas lignocelulósicas : breve revisión de los principales métodos utilizados. 2021;108–19.
77. Sharma HK, Xu C, Qin W. Biological Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuels and Bioproducts: An Overview. *Waste and Biomass Valorization*. 2019;10(2):235–51.
78. Ferdeş M, Dincă MN, Moiceanu G, Zabava BŞ, Paraschiv G. Microorganisms and enzymes used in the biological pretreatment of the substrate to enhance biogas production: A review. *Sustainability (Switzerland)*. 2020;12(17).
79. Holguer Pogo y Danny Jaya. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito. Tesis [Internet]. 2020;1–100. Available from: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
80. Ummalyima SB, Supriya RD, Sindhu R, Binod P, Nair RB, Pandey A, et al. Biological pretreatment of lignocellulosic biomass-current trends and future perspectives [Internet]. *Second and Third Generation of Feedstocks: The Evolution of Biofuels*. Elsevier Inc.; 2019. 197–212. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-815162-4.00007-0>
81. Zambrano Arcentales MA. Formación de un complejo enzimático lignocelulolítico a partir de hongos de pudrición de la madera para hidrolizar paja de trigo. 2017;
82. Vergara Alarcón P. Estudio del fraccionamiento de la lignocelulosa mediante procesos con disolventes y los estudios para el análisis y aprovechamiento de las fracciones. 2019;236.

83. Romero-García JM, Niño L, Martínez-Patiño C, Álvarez C, Castro E, Negro MJ. Biorefinery based on olive biomass. State of the art and future trends. *Bioresource Technology*. 2014;159:421–32.
84. Gírio FM, Fonseca C, Carvalheiro F, Duarte LC, Marques S, Bogel-Lukasik R. Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. *Bioresource Technology* [Internet]. 2010;101(13):4775–800. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.088>
85. Sánchez Riaño A, Gutiérrez Morales A, Muñoz Hernández J, Rivera Barrero C. Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Tumbaga*. 2010;1(5):61–91.
86. Sarker TR, Pattnaik F, Nanda S, Dalai AK, Meda V, Naik S. Hydrothermal pretreatment technologies for lignocellulosic biomass: A review of steam explosion and subcritical water hydrolysis. *Chemosphere* [Internet]. 2021;284(June):131372. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131372>
87. Brodeur G, Yau E, Badal K, Collier J, Ramachandran KB, Ramakrishnan S. Chemical and physicochemical pretreatment of lignocellulosic biomass: A review. *Enzyme Research*. 2011;2011(1).
88. Nauman Aftab M, Iqbal I, Riaz F, Karadag A, Tabatabaei M. Different Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass for Use in Biofuel Production. *Biomass for Bioenergy - Recent Trends and Future Challenges*. 2019;1–24.
89. GómeJavier. Universidad Complutense de Madrid Un. La teisis doctoral en teorico y empirico. 2015;1–55.
90. Barroso Casillas M. Pretratamiento De Biomasa Celulosica Para La Obtención De Etanol En El Marco De Una Biorrefineria. Universidad Politécnica de Madrid [Internet]. 2010;117. Available from: http://oa.upm.es/10559/1/MIGUEL_BARROSO_CASILLAS.pdf
91. I.Q. Rivas Montiel JL. Diseño y simulación del proceso de obtención de etanol a partir de bagazo de caña. 2017;
92. Gómez A. Universidad Complutense de Madrid Un. La teisis doctoral en teorico y empirico. 2016. 1–55.
93. Rahardjo AH, Azmi RM, Muharja M, Aparamarta HW, Widjaja A. Pretreatment of Tropical Lignocellulosic Biomass for Industrial Biofuel Production : A Review. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2021;1053(1):012097.
94. Palmqvist E, Hahn-Hägerdal B, Szengyel Z, Zacchi G, Réczey K. Simultaneous detoxification and enzyme production of hemicellulose hydrolysates obtained after steam pretreatment. *Enzyme and Microbial Technology*. 1997;20(4):286–93.
95. Vignon MR, Garcia-Jaldon C, Dupeyre D. Steam explosion of woody hemp chènevotte. *International Journal of Biological Macromolecules*. 1995;17(6):395–404.
96. I.Q. Rivas Montiel JL. Diseño y simulación del proceso de obtención de etanol a partir de bagazo de caña. 2017;

97. Gonz AP. Pretreatment of animal manure biomass to improve biogas production: A review. 2018;
98. Robledo A, Rangel AS. producción de bioetanol Science , Technology and Educational Research. 2020;(July).
99. Santos Meneses TM. Autohidrólisis y deslignificación organosolv de madera de *Pinus radiata* para la recuperación de hemicelulosas y lignina con aprovechamiento de la fracción celulósica por vía enzimática. 2017;
100. Li HQ, Jiang W, Jia JX, Xu J. PH pre-corrected liquid hot water pretreatment on corn stover with high hemicellulose recovery and low inhibitors formation. *Bioresource Technology* [Internet]. 2014;153:292–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.11.089>
101. Zhang Y, Di X, Xu J, Shao J, Qi W, Yuan Z. Effect of LHW, HCl, and NaOH pretreatment on enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse: sugar recovery and fractal-like kinetics. *Chemical Engineering Communications* [Internet]. 2019;206(6):772–80. Available from: <https://doi.org/10.1080/00986445.2018.1525365>
102. Pérez JA, Ballesteros I, Ballesteros M, Sáez F, Negro MJ, Manzanares P. Optimizing Liquid Hot Water pretreatment conditions to enhance sugar recovery from wheat straw for fuel-ethanol production. *Fuel*. 2008;87(17–18):3640–7.
103. Mosier N, Hendrickson R, Ho N, Sedlak M, Ladisch MR. Optimization of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn stover. *Bioresource Technology*. 2005;96(18 SPEC. ISS.):1986–93.
104. Laser M, Schulman D, Allen SG, Lichwa J, Antal MJ, Lynd LR. “A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol.” *Bioresource Technology*. 2002;81(1):33–44.
105. F KGe. 濟無No Title No Title No Title. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952. 1967;(517):22.
106. Mokomele T, da Costa Sousa L, Balan V, van Rensburg E, Dale BE, Görgens JF. Ethanol production potential from AFEX™ and steam-exploded sugarcane residues for sugarcane biorefineries. *Biotechnology for Biofuels* [Internet]. 2018;11(1):1–21. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1130-z>
107. Kumar P, Barrett DM, Delwiche MJ, Stroeve P. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 2009;48(8):3713–29.
108. Li BZ, Balan V, Yuan YJ, Dale BE. Process optimization to convert forage and sweet sorghum bagasse to ethanol based on ammonia fiber expansion (AFEX) pretreatment. *Bioresource Technology* [Internet]. 2010;101(4):1285–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.044>
109. Balan V, da Costa Sousa L, Chundawat SPS, Marshall D, Sharma LN, Chambliss CK, et al. Enzymatic digestibility and pretreatment degradation products of AFEX-treated hardwoods (*populus nigra*). *Biotechnology Progress*. 2009;25(2):365–75.

110. Cortínez Victoria. Comparación De Pretratamientos En Residuos Forestales Para La Producción De Bioetanol De Segunda Generación: Hidrólisis Ácida Y Líquidos Iónicos. Universidad de Chile. 2010;122.
111. REVISIÓN DE LOS PRETRATAMIENTOS ÁCIDO DILUIDO, ALCALINO Y AFEX APLICADOS A DIFERENTES TIPOS DE BIOMASAS. Ángela Constanza Forero Espinel - PDF Free Download [Internet]. [cited 2021 Sep 1]. Available from: <http://docplayer.es/209004962-Revision-de-los-pretratamientos-acido-diluido-alcaino-y-afex-aplicados-a-diferentes-tipos-de-biomasas-angela-constanza-forero-espinel.html>
112. Chundawat SPS, Pal RK, Zhao C, Campbell T, Teymouri F, Videto J, et al. "Ammonia fiber expansion (AFEX) pretreatment of lignocellulosic biomass." Journal of Visualized Experiments. 2020;2020(158).
113. Schacht C, Zetzl C, Brunner G. From plant materials to ethanol by means of supercritical fluid technology. Journal of Supercritical Fluids. 2008;46(3):299–321.
114. Gujarati D, Porter D. No 主観的健康感を中心とした在宅高齢者における 健康関連指標に関する共分散構造分析Title. 2010;(June).
115. Supercritical Fluid Cleaning: Fundamentals, Technology and Applications - Samuel P. Sawan - Google Books [Internet]. [cited 2021 Sep 1]. Available from: [https://books.google.es/books?hl=en&lr=&id=Ik6Z1HLkuoEC&oi=fnd&pg=PR1&dq=J.McHardy+and+S.+P.+Sawan,+Supercritical+Fluid+Cleaning:+Fundamentals,+Technology+and+Applications,+Noyes+Publications,+Park+Ridge,+NJ,+USA,+1998.\)&ots=tyFswWT2Yx&sig=JOIZCu5f1VFF-qUC_TvZm0mUJdg&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.es/books?hl=en&lr=&id=Ik6Z1HLkuoEC&oi=fnd&pg=PR1&dq=J.McHardy+and+S.+P.+Sawan,+Supercritical+Fluid+Cleaning:+Fundamentals,+Technology+and+Applications,+Noyes+Publications,+Park+Ridge,+NJ,+USA,+1998.)&ots=tyFswWT2Yx&sig=JOIZCu5f1VFF-qUC_TvZm0mUJdg&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
116. Mier Quiroz M. Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales. 2007;1–10.
117. Pérez Jiménez JA. Estudio del pretratamiento con agua caliente en fase líquida de la paja de trigo para su conversión biológica a etanol. 2008. 234.
118. Agbor VB, Cicek N, Sparling R, Berlin A, Levin DB. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. Biotechnology Advances [Internet]. 2011;29(6):675–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.005>
119. Lü H, Ren M, Zhang M, Chen Y. Pretreatment of corn stover using supercritical CO2 with water-ethanol as co-solvent. Chinese Journal of Chemical Engineering [Internet]. 2013;21(5):551–7. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1004-9541\(13\)60508-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1004-9541(13)60508-X)
120. Kumari D, Singh R. Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: A critical review. Renewable and Sustainable Energy Reviews [Internet]. 2018;90(May 2017):877–91. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.111>
121. Talaiekhozani A, Rezania S. A critical review on the various pretreatment technologies of lignocellulosic materials. Journal of Environmental Treatment Techniques. 2020;8(3):925–35.
122. Tayyab M, Noman A, Islam W, Waheed S, Arafat Y, Ali F, et al. Bioethanol production from lignocellulosic biomass by environment-friendly pretreatment methods: A review. Applied Ecology and Environmental Research. 2018;16(1):225–49.

123. Banerjee S, Sen R, Pandey RA, Chakrabarti T, Satpute D, Giri BS, et al. Evaluation of wet air oxidation as a pretreatment strategy for bioethanol production from rice husk and process optimization. *Biomass and Bioenergy* [Internet]. 2009;33(12):1680–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2009.09.001>